

DE LA NOVOCAÏNE

Extraction-Élimination
Influence sur la formule urinaire

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 1^{er} février 1945

par

Georges MÉZI

Pharmacien
Licencié ès Sciences
Assistant de Pharmacie Chimique
Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Montpellier

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

JURY { MM. ASTRUC, Doyen *Président*
JAULMES, Professeur
CASTEL, Chargé de Cours } *assesseurs*

1944
IMPRIMERIE ARISTIDE QUILLET — MONTPELLIER

DE LA NOVOCAÏNE

Extraction - Élimination

Influence sur la formule urinaire

DE LA NOVOCAÏNE

Extraction-Élimination
Influence sur la formule urinaire

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le février 1945

par

Georges MÉZI

Pharmacien
Licencié ès Sciences
Assistant de Pharmacie Chimique
Lauréat de la Faculté de Pharmacie de Montpellier

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

JURY { MM. ASTRUC, Doyen *Président*
JAULMÈS, Professeur
CASTEL, Chargé de Cours } *assesseurs*

1944

IMPRIMERIE ARISTIDE QUILLET — MONTPELLIER

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. Ⓢ)	Doyen.
E. CANALS (I. P. Ⓢ)	Assesseur.
TOURRETTE (I. P. Ⓢ)	Secrétaire.

PROFESSEURS

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. Ⓢ)	Pharmacie galénique et pharmacodynamie
C. HOLLANDE (I. P. Ⓢ)	Zoologie et Microbiologie.
A. JUILLET (I. P. Ⓢ)	Botanique et Matière médicale.
E. CANALS (I. P. Ⓢ)	Physique.
P. JAULMES (A. Ⓢ)	Analyse et Toxicologie.
R. DOLIQUE (A. Ⓢ)	Chimie minérale et Pharmacie industrielle.
J. GIROUX, professeur sans chaire..	Pharmacodynamie
R. GRANGER, chargé du cours	Chimie organique.
P. CASTEL (A. Ⓢ) chargé du cours..	Pharmacie chimique.

DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (✱, I. P. Ⓢ, Ⓢ)

PROFESSEURS HONORAIRES

MM.

M. MOUSSERON, (A. Ⓢ), professeur à la Faculté des Sciences.
A. FAUCON (O. ✱, I. P. Ⓢ, Ⓢ, C. ✱, G. O. ✱)

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.

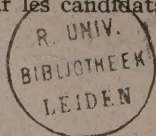
A. JUILLET (I. P. Ⓢ)	Botanique.
E. CANALS (I. P. Ⓢ)	Hydrologie.
P. JAULMES (A. Ⓢ)	Toxicologie.
R. DOLIQUE (A. Ⓢ)	Pharmacie industrielle.
N.....	Chimie biologique
R. GRANGER	Chimie organique.
J. GIROUX	Physiologie.
J. SUSPLUGAS	Cryptogamie et Zoologie.
L. ASTRUC	Législation pharmaceutique.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.

L. FARRÉ (I. P. Ⓢ)	Chimie et Pharmacie..
SUSPLUGAS	Histoire naturelle.
N.....	Chimie.

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui sont présentées.



A MES PARENTS

A MA FEMME ET A MON FILS

A MA SŒUR

A MA FAMILLE ET A MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOYEN A. ASTRUC

Doyen de la Faculté de Pharmacie
Professeur de Pharmacie Galénique et de Pharmacodynamie
Correspondant national de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'Honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. JAULMES

Professeur de Chimie analytique et de toxicologie à la
Faculté de Pharmacie

A MON MAÎTRE

MONSIEUR P. CASTEL

Chargé de la chaire de Pharmacie Chimique à la Faculté
de Pharmacie

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HONORAIRE A. FAUCON
Officier de la Légion d'Honneur

A TOUS MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE



AVANT-PROPOS

Avant d'exposer les résultats de nos recherches, nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidé à entreprendre ce travail et à le mener à bien.

Nous voulons tout d'abord exprimer notre respectueuse gratitude à Monsieur le Doyen ASTRUC qui a bien voulu accepter de présider cette thèse. Depuis le début de notre vie universitaire, il n'a cessé de nous témoigner une bienveillante sollicitude; il a soutenu et encouragé nos efforts et c'est grâce à lui que nous pouvons aujourd'hui être candidat au diplôme d'État. C'est lui également que nous devons remercier pour le poste d'assistant qu'il nous a fait l'honneur de nous confier.

Monsieur le Professeur Honoraire FAUCON nous a accueilli dans son laboratoire dès notre première année d'études. Il a guidé nos premiers pas avec une paternelle bienveillance et il nous a fait comprendre et aimer la matière qu'il enseignait. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Nous remercions vivement Monsieur le Professeur JAULMES d'avoir accepté de faire partie de notre jury. Nous avons toujours trouvé, dans son laboratoire, un accueil très cordial. Ses précieux conseils nous ont été d'un grand secours dans l'élaboration de ce travail.

Lorsque voulant entreprendre une thèse, nous avons demandé un sujet à Monsieur CASTEL, nous lui avons précisé que nous désirions un genre de recherches que nous pourrions, le cas échéant, poursuivre en dehors de la Faculté. Nous envisagions alors un retour possible au Maroc, notre pays d'origine. Les événements ont forcé notre décision, et

maintenant que voilà achevé ce travail, nous nous rendons compte qu'il nous eût été absolument impossible de le mener à bien en dehors de l'atmosphère laborieuse de notre Faculté de Pharmacie, sans ses ressources matérielles et spirituelles surtout. Et c'est ici qu'il nous faut dire tout ce que nous devons à Monsieur CASTEL, alors Chef de Travaux, maintenant chargé du cours magistral de Pharmacie Chimique. Il a été pour nous un guide précieux et sûr. Sa valeur jointe à une grande bonté ont créé l'ambiance nécessaire à un travail fructueux. Qu'il veuille bien nous permettre de lui souhaiter une carrière universitaire en rapport avec ses qualités et ses mérites.

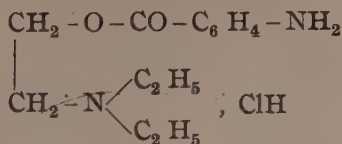
A nos maîtres de la Faculté de Pharmacie, nous exprimons toute notre reconnaissance pour la qualité de leur enseignement, pour les services qu'ils nous ont rendus au cours de nos recherches et pour la confiance qu'ils nous ont témoignée en nous chargeant des Travaux Pratiques de Chimie de quatrième année.

INTRODUCTION

Le but que nous nous étions fixé en commençant ce travail, était l'étude de l'urine des anesthésiés à la novocaïne*, comportant d'une part l'étude de l'élimination de ce composé par la voie rénale, d'autre part l'étude de l'influence de l'injection de cet anesthésique sur la formule urinaire. Ce sujet initial occupe moins de la moitié de notre thèse achevée. C'est que, la littérature nous ayant montré que les recherches effectuées jusqu'ici sur l'élimination urinaire de la novocaïne avaient abouti à des conclusions contradictoires, nous nous sommes rapidement rendu compte qu'il était nécessaire, pour apporter une contribution de quelque valeur à la solution de ce problème, de mettre au point une méthode sûre de détection de cet anesthésique local dans les urines.

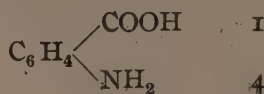
Nous avons donc été amené à faire préalablement une étude systématique de l'extraction de la novocaïne à partir de ses solutions aqueuses, étude à laquelle nous avons donné une grande extension en raison de l'intérêt général qu'elle présente. Il nous a fallu également étudier une méthode sensible de dosage.

En outre, la novocaïne dont nous rappelons la formule :

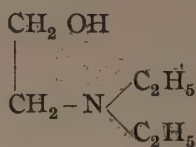


* Au cours de cet exposé, nous désignerons le chlorhydrate de *p.* aminobenzoyl-diéthylaminoéthanol du Codex 1937 par son synonyme usuel : novocaïne, dans un but évident de simplicité.

est susceptible de s'hydrolyser sous diverses influences : action des alcalis ou des acides, vieillissement et stérilisation des solutions, passage à travers l'organisme ... en donnant l'acide *p.* aminobenzoïque d'une part :



et le diéthylaminoéthanol d'autre part :



Il suffit, pour connaître le degré d'hydrolyse de la novocaïne, de doser l'un de ces deux composés. L'acide *p.* aminobenzoïque étant plus facile à séparer, à caractériser, et à doser que le diéthylaminoéthanol, c'est à lui que l'on s'intéresse généralement.

Nous nous sommes également proposé de rechercher dans l'urine l'acide *p.* aminobenzoïque ayant pris naissance dans l'organisme aux dépens de la novocaïne. C'est pourquoi nous avons entrepris de même l'étude systématique de l'extraction de cet acide à partir de ses solutions aqueuses. Cette étude présente en outre un intérêt général pour la recherche de l'altération de tous les anesthésiques locaux, esters de l'acide *p.* aminobenzoïque.

La première partie de notre thèse est par suite intitulée : séparation et dosage de la novocaïne et de l'acide *p.* aminobenzoïque.

Les différents auteurs qui se sont occupés de cette question ont tous utilisé une méthode de séparation physique : l'extraction à l'aide d'un solvant organique. Nous rappelons tout d'abord les principes de cette extraction et nous donnons

une courte bibliographie des techniques parues. Puis, nous appuyant sur la notion de coefficient de partage, nous recherchons systématiquement le meilleur liquide extracteur de la novocaïne-base et de l'acide *p.* aminobenzoïque. Nous déterminons également l'alcali et l'acide à employer pour déplacer respectivement ces deux composés de leurs sels. Continuant notre étude systématique, nous fixons les conditions d'extraction de ces deux corps à l'aide de l'ampoule à décantation d'une part, d'un appareil d'extraction continue d'autre part. Puis, après avoir exposé les nombreuses méthodes de dosage à notre disposition, nous en choisissons une pour la novocaïne, nous en faisons la critique, et nous l'étendons au dosage de l'acide *p.* aminobenzoïque. Nous donnons enfin quelques résultats.

Le dernier chapitre de cette première partie est consacré à un essai de séparation chimique des deux corps qui nous intéressent, par précipitation de l'un ou de l'autre.

La deuxième partie de notre travail sera, ainsi que nous l'avons dit, une étude de l'urine des anesthésiés. Grâce à la technique d'extraction de la novocaïne précédemment mise au point, nous avons repris les recherches sur l'élimination urinaire de cet anesthésique local. Nous avons jugé plus rationnel d'effectuer ces expériences sur l'homme, dans les conditions habituelles de la thérapeutique. Nous avons utilisé les voies d'injection intramusculaire et intraveineuse. Pour la voie intramusculaire, c'est sur nous-même que nous avons expérimenté, avec une très grande sensibilité, les urines d'opérés ne se prêtant pas, comme nous le verrons, à cette recherche. Les résultats obtenus, en contradiction avec ceux de quelques auteurs, nous ont incité à faire également des expériences complémentaires sur le lapin. Pour la voie intraveineuse, nous avons utilisé des urines de malades ainsi traités.

Nous avons étudié de même l'élimination urinaire de l'acide *p.* aminobenzoïque provenant de la décomposition de la novocaïne dans l'organisme.

D'autre part, nous avons analysé nos urines, avant et après l'injection. Les différents auteurs ne sont pas d'accord sur la part qui revient à la novocaïne dans les modifications constatées de la formule urinaire des opérés. Notre mode opératoire, éliminant toute influence autre que celle de l'anesthésique, nous a permis de nous rendre compte indubitablement de cette influence.

Cette deuxième partie est, en conséquence, divisée en trois chapitres : les deux premiers sont consacrés à l'étude de l'élimination urinaire de la novocaïne d'une part, et de l'acide *p.* aminobenzoïque d'autre part, le troisième traite de l'influence de l'injection intramusculaire de novocaïne sur la formule urinaire.

Chacun de ces chapitres comprend une rapide revue bibliographique de la question, puis l'indication des méthodes que nous avons utilisées, enfin l'exposé de nos résultats et des conclusions que nous avons pu en tirer.

PREMIÈRE PARTIE

SÉPARATION ET DOSAGE DE LA NOVOCAÏNE
ET DE L'ACIDE *p.* AMINOBENZOÏQUE

CHAPITRE PREMIER

I. Principes de la séparation physique :

1^o Lorsque l'on traite la novocaïne en solution aqueuse par une base suffisamment forte, celle-ci déplace la base dont la novocaïne est le chlorhydrate, c'est-à-dire le *p.* aminobenzoyl-diéthylaminoéthanol que nous appellerons plus commodément « la novocaïne-base ». Cette dernière est peu soluble dans l'eau et beaucoup plus soluble dans les solvants organiques; d'où la possibilité de l'extraire par agitation avec ces solvants. Par contre, la novocaïne (chlorhydrate) est très soluble dans l'eau et insoluble dans les solvants organiques; d'où la possibilité de la refaire passer en solution aqueuse par agitation du liquide d'extraction de la base avec de l'eau chlorhydrique (ce principe est identique à celui de Stass-Otto pour l'extraction des alcaloïdes dont la novocaïne possède la plupart des propriétés).

Remarquons que, par ce procédé, on extrait éventuellement le diéthylaminoéthanol en même temps que la novocaïne-base.

2^o Le principe est analogue pour l'acide *p.* aminobenzoïque : cet acide, peu soluble dans l'eau acidulée, est plus soluble dans certains solvants organiques dans des conditions que nous déterminerons; et son sel de sodium est très soluble dans l'eau et insoluble dans les solvants organiques.

II. Revue des méthodes proposées :

Plusieurs techniques ont déjà été établies sur ces principes fondamentaux :

1° En 1920, THIEULIN (1) étudiant l'élimination urinaire de la novocaïne chez le lapin, emploie comme solvant l'éther. Il alcalinise l'urine par la soude jusqu'à réaction alcaline au papier de tournesol, et procède « à plusieurs reprises » au lavage de cette urine avec son volume d'éther pour en extraire la novocaïne-base; puis, passant en milieu « franchement acide au papier de tournesol » grâce à l'acide chlorhydrique, il enlève l'acide *p.* aminobenzoïque par l'éther, en lavant « à plusieurs reprises » comme précédemment.

2° SCHULEK et VASTAGH (2); en 1928, déplacent la novocaïne-base par l'ammoniaque et l'extraient 5 à 6 fois par le chloroforme (jusqu'à ce qu'une petite portion du solvant évaporé ne donne plus de précipité avec le réactif de Mayer).

3° En 1933, LABAT et KERGONOU (3) conseillent d'extraire la novocaïne à l'état de base par l'éther, après alcalinisation de sa solution.

4° F. et J. GIRAULT (4) donnent, en 1934, un dosage volumétrique de la novocaïne (ainsi que de la larocaïne et de la stovaïne) au cours duquel 1/1000 molécule est dissous dans le plus petit volume d'eau possible, la base est déplacée par l'ammoniaque et extraite à deux reprises avec 50 cm³ et 30 cm³ d'éther.

5° En 1934 également, WILLSTAEDT (5) recherche la novocaïne dans les muscles en les broyant et les mélangeant avec du carbonate acide de sodium et du sulfate de sodium anhydre et en épuisant par l'éther la pulpe sèche obtenue, dans un appareil de Soxhlet, pendant une heure.

6° En 1935, DUNLOP (6) étudiant le sort de la novocaïne chez le chien fait trois extractions à l'éther pour enlever ce composé de 2 cm³ de sang alcalinisé par la soude N en présence de tournesol.

7° En 1935 également, SCHOU et ABILDGAARD (7) étudient l'altération des solutions de novocaïne au cours de la stérilisation et de la conservation. Ils utilisent comme solvant le mélange chloroforme (3 parties) — alcool isopropylique (1 partie). La base est déplacée de ses solutions aqueuses

par le carbonate de sodium et extraite par trois fois avec un volume de mélange extracteur égal à celui de la solution; puis, passant à l'aide de l'acide chlorhydrique 2 N en milieu acide jusqu'à début de coloration rouge du méthylorange (pH 3,3 - 3,5), ils procèdent à l'extraction de l'acide *p.* aminobenzoïque par trois nouveaux lavages, avec un volume de liquide extracteur double de celui de la solution, compte tenu de l'addition de l'acide chlorhydrique.

8° Enfin, en 1938, HARTLEY (8) donne une autre méthode pour la détermination du degré d'hydrolyse de la novocaïne en solution aqueuse. Après avoir été déplacée par l'ammoniac, la base non décomposée est extraite de 15 cm³ de solution par une fois 15 cm³ et quatre fois 10 cm³ de chloroforme.

Il ressort de cette rapide revue des méthodes d'extraction de la novocaïne et de l'acide *p.* aminobenzoïque, qu'ont été préconisés comme solvants : l'éther, le chloroforme, le mélange chloroforme 3 p.- alcool isopropylique 1 p. Le choix des auteurs semble avoir été arbitraire. Nous allons, au contraire, étudier systématiquement tous ces liquides, en y ajoutant le benzène que Marie WALRAND (9) a utilisé pour l'extraction de la cocaïne des urines.

CHAPITRE II

RECHERCHE DU MEILLEUR LIQUIDE EXTRACTEUR DE LA NOVOCAÏNE ET DE L'ACIDE *p*. AMINO BENZOÏQUE

Cette étude sera basée sur la notion de coefficient de partage due à BERTHELOT et JUNGFLISH (10). Nous n'exposons pas en détail cette notion bien connue. Nous nous bornerons à souligner que l'on désigne habituellement sous le nom de coefficient de partage le rapport :

$$\frac{\text{concentration dans l'eau}}{\text{concentration dans le solvant organique}}$$

tandis que nous avons, pour des raisons de commodité, inversé ce rapport. Au cours de cet exposé, nous désignerons donc le coefficient de partage par :

$$K = \frac{\text{concentration dans le solvant organique}}{\text{concentration dans l'eau}}$$

Rappelons également que le coefficient de partage varie avec la concentration et la température, l'influence de ce dernier facteur étant faible aux températures ordinaires.

Les mesures de ce coefficient de partage ont été effectuées selon la technique habituelle : nous avons agité dans une ampoule à décantation la solution du corps à étudier avec le solvant organique. Nous agitions dix minutes de manière à bien atteindre l'équilibre. Après le temps de repos néces-

saire pour obtenir deux couches parfaitement limpides, nous procédions au dosage du corps étudié dans chacune des deux phases. Après une première mesure approximative effectuée avec des volumes égaux de solution aqueuse et de solvant, des mesures plus précises étaient faites avec des volumes calculés de manière que, l'équilibre étant atteint, les corps étudiés se trouvent dans les deux phases en concentration se prêtant à un dosage plus aisé et plus précis.

Les méthodes de dosage que nous avons employées sont exposées plus loin.

Les mesures de pH ont été effectuées au « péhamètre » colorimétrique de Hellige. En dehors des limites de mesure de cet appareil, nous avons employé le « potentio- pH -mètre » de Jouan à électrode de verre.

I. Étude des liquides extracteurs de la novocaïne :

Nous avons opéré sur des solutions au 1/10.000 de novocaïne. Cette faible concentration a été choisie car elle nous a permis la facile obtention de deux phases parfaitement limpides et elle convenait bien à la méthode de dosage rapide que nous avons utilisée.

1° L'ÉTHER * :

Nous avons étudié la variation du coefficient de partage de la novocaïne entre l'éther et l'eau en fonction du pH . Pour faire varier celui-ci les solutions ont été alcalinisées avec des quantités plus ou moins grandes d'alcalis de forces variables, et voici les résultats obtenus ($t = 22^{\circ}$ à 25°) :

* La novocaïne-base est soluble à raison de 154 g dans 100 cm³ d'éther à 20°. Cette solubilité a été mesurée, d'une part en évaporant 5 cm³ de la solution étherée saturée et en pesant le résidu, d'autre part en prenant la densité de cette solution saturée et en ramenant, par le calcul, le poids de corps dissous dans 100 cm³ de solution au poids de corps dissous dans 100 cm³ de solvant.

TABLEAU I.

pH	K	Alcali employé
6,1	0,017	Solution non alcalinisée
6,7	0,98	Soude diluée
7,5	2,7	Carbonate acide de sodium
8,3	11	Carbonate acide de sodium
8,4	14,5	Carbonate acide de sodium (à saturation)
9,1	35,8	Borate de sodium
9,4	39,1	Ammoniaque
9,6	40,8	Carbonate de sodium
10,3	41,8	Carbonate de sodium
10,5	42,3	Carbonate de sodium
12	39,9	Soude
13 (environ)	38,1	Soude

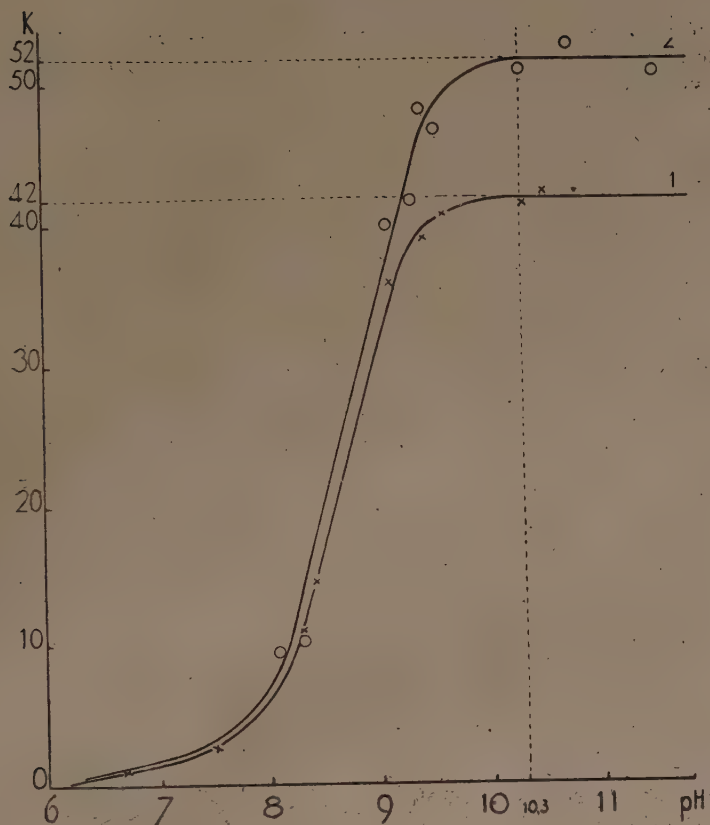
que nous pouvons traduire par la courbe I (Graphiques I et II).

Nous voyons que le coefficient de partage atteint son maximum, 42 environ, au pH 10,3. A ce pH toute la novocaïne-base est libérée.

REMARQUE I. — A des pH élevés (12 et au-delà) obtenus avec de la soude par exemple, le coefficient de partage semble s'abaisser légèrement. Ce fait est dû, ainsi que nous l'avons vérifié, à une légère hydrolyse de la novocaïne-base en milieu trop fortement alcalin; l'acide *p.* aminobenzoïque qui a pris naissance à ses dépens, reste en solution aqueuse et est compté, ainsi que nous le verrons, comme novocaïne au cours du dosage, ce qui diminue le coefficient de partage.

REMARQUE 2. — Le Codex 1937 indique que les solutions au 1/10 de novocaïne ne précipitent pas par le carbonate acide de sodium. La solubilité de la base étant trop faible * pour expliquer sa non-

* Cette solubilité est de 1 p. pour 1034 p. d'eau distillée à 15°. Nous l'avons mesurée de la façon suivante : RAGNIER (12) avait remarqué que la cocaïne (base), au contact de l'eau, subit, même à la température du laboratoire, une décomposition lente en benzoylecgonine et alcool méthylique. Aussi pour rechercher la solubilité de la cocaïne dans l'eau s'est-il



GRAPHIQUE I

Courbes représentatives des variations du coefficient de partage de la novocaïne-base.

Courbe 1, entre l'éthère et l'eau.

Courbe 2, entre le benzène et l'eau,

en fonction du pH — concentration initiale de la solution aqueuse : 1/10.000 — $t = 22^{\circ}$ à 25° .

contenté d'une agitation de 15 minutes à froid, un contact plus prolongé risquant de donner lieu à une dissolution chimique. Nous avons opéré de même et pour la même raison : nous avons en effet constaté que la novocaïne-base, comme la cocaïne, se décompose peu à peu au contact de l'eau en donnant de l'acide *p*. aminobenzoïque et du diéthylamino-éthanol. Nous avons donc agité la base dans l'eau distillée, dans un flacon bouché émeri presque plein, pendant 15 minutes, filtré et dosé colorimétriquement la quantité dissoute.

précipitation *, LEBEAU et COURTOIS (11) émettent l'hypothèse de la formation de « carbonate de novocaïne ou carbaïne ». Il semblerait donc que l'ion carbonique se combine à la novocaïne-base pour donner un composé stable, soluble dans l'eau, non hydrolysé de manière notable. Cette hypothèse paraît confirmée par le fait qu'une suspension de novocaïne-base dans l'eau devient limpide lorsqu'on y fait barboter un courant de gaz carbonique.

Cependant, ce composé n'a jamais pu être isolé à l'état solide. Nous avons essayé de concentrer en atmosphère sulfurique, à froid, sous pression ordinaire, la solution obtenue en faisant barboter un courant de gaz carbonique dans une suspension aqueuse de base. C'est la base qui a cristallisé. (Le produit ne donnait aucun trouble avec l'eau de baryte.) Cependant VINCENT (13) donne comme explication la grande instabilité de la « carbaïne ». On doit donc se demander si ce produit, non isolé à l'état solide, ne pourrait exister en solution seulement. Or, nous avons un moyen d'investigation par l'étude du coefficient de partage et il est curieux de constater que l'emploi du carbonate acide de sodium pour alcaliniser les solutions de novocaïne dans les expériences ci-dessus, nous a conduit à des points qui s'intègrent parfaitement dans la courbe représentative des variations du coefficient de partage de la novocaïne-base entre l'éther et l'eau en fonction du pH . Ce fait semblerait donc prouver que le carbonate de novocaïne n'a pas de stabilité spéciale et ne se différencie pas en cela des autres sels de novocaïne-base.

Cependant nous avons fait quelques expériences dans le but de découvrir l'existence de ce carbonate de novocaïne en solution et les résultats semblent au contraire prouver que ce composé, dans certaines conditions, possède des propriétés inattendues qui le différencient des autres sels : nous avons préparé une solution de « carbaïne » au 1/100 en traitant par un courant du gaz carbonique une suspension aqueuse de novocaïne-base. Après quatre heures de barbotage, la solution est devenue limpide et l'est restée même après agitation dans le vide. Nous avons alors suivi attentivement les propriétés de cette solution en mesurant le coefficient de partage entre l'éther et l'eau en fonction du pH . Voici nos résultats :

Solution mère au	K	pH final
1/100	0,84	7,35
1/1000	0,78	7,05
1/10.000	0,69	6,8

* En effet, dans une solution au 1/10 de novocaïne, saturée de carbonate acide de sodium, dont le pH est donc égal à 8,4, 34,5 % de la novocaïne-base sont libérés, puisqu'à ce pH $K = 14,5$ soit les 34,5/100 de 42, coefficient de partage correspondant à la libération totale de la base. La concentration théorique de la novocaïne-base est donc de 2,6 % environ, soit à peu près 27 fois la solubilité maxima.

Solution décarboniquée
par agitation d'1 h. 1/2
dans le vide à froid

	K	pH final
1/100	1,34	7,6
1/1000	1,21	7,3
1/10.000	0,98	7,0

Nous avons ensuite mesuré le coefficient de partage de cette solution décarboniquée au 1/100, après addition de quantités croissantes de carbonate acide de sodium :

Solution décarboniquée
au 1/100

	K	pH final
Sans $\text{CO}_3 \text{H Na}$	1,34	7,6
+ 1/100 $\text{CO}_3 \text{H Na}$	3,9	8,15
+ 1/10 $\text{CO}_3 \text{H Na}$	6	8,4

Nous observons que les points représentatifs de ces solutions se trouvent sur une courbe continue mais très différente de la courbe 1. La quantité de novocaïne-base libre étant de moins de la moitié de ce qu'elle était lorsque nous étions partis du chlorhydrate lors de l'établissement de la courbe 1. Nous nous sommes demandé alors si l'influence du chlorure de sodium n'était pas de nature à modifier soit le coefficient de partage soit les équilibres ioniques. Nous avons donc ajouté à notre solution décarboniquée au 1/100 des quantités variables et croissantes de chlorure de sodium et nous avons obtenu les résultats suivants :

Solution décarboniquée
au 1/100

	K	pH final
Sans Cl Na	1,34	7,6
+ 1/100 Cl Na	1,09	7,6
+ 1/10 Cl Na	0,91	7,6

Ces expériences montrent que, à pH constant, le chlorure de sodium a plutôt tendance à retenir la novocaïne-base.

Le carbonate de novocaïne paraît donc bien exister en tant que composé particulier, possédant une stabilité singulière. C'est là un phénomène curieux que nous nous proposons d'étudier de façon plus complète par des mesures de conductivité.

REMARQUE 3. — Nous avons mesuré également le coefficient de partage de la novocaïne-base entre l'éther et l'eau, à pH supérieur à 10,3 pour la concentration de 1/100, cet anesthésique local étant généralement utilisé en solution au 1/100 ou de concentration voisine.

Nous avons trouvé $K = 59,5$ à 13° *. Le coefficient de partage est plus grand que pour la concentration de $1/10.000$. Les raisonnements qui vont suivre s'appliquent donc à fortiori à ces solutions plus concentrées dont on aura souvent à s'occuper dans la pratique.

Comme vérification, nous avons mesuré le même coefficient de partage à la concentration de $1/500$ et de $1/1000$; nous avons obtenu les valeurs intermédiaires $54,8$ et $53,7$.

REMARQUE 4. — EISENBRAND et PICHER (14) ont déjà mesuré, en 1938, le coefficient de partage de la novocaïne-base entre l'éther et l'eau. Ils ont agité, pendant 16 heures, 100 cm^3 d'une solution de ce composé de concentration variable ($2,5\%$, 1% , $0,1\%$, $0,01\%$, $0,001\%$) dans l'éther saturé d'eau, avec 100 cm^3 de solution tampon de borate ou de phosphate (selon Sørensen) dans l'eau saturée d'éther. Le dosage colorimétrique de la novocaïne-base dans la phase aqueuse leur a permis la détermination du coefficient de partage de ce composé entre l'éther et l'eau à des pH variables mesurés électrométriquement après l'agitation. Ces expériences montrent que ce coefficient croît avec le pH . Ceci serait dû au fait que la dissociation de la base diminue lorsque le pH augmente et que seule la base non dissociée participe au partage entre les deux phases; et les auteurs ont calculé les coefficients de partage de la base non dissociée qui présentent effectivement une valeur relativement fixe quel que soit le pH (64 ± 18).

Suivant leurs théories, ces deux auteurs auraient dû trouver, pour un même pH , des coefficients de partage identiques, quelle que soit la dilution, la dissociation de la base étant la même. Or voici quelques résultats extraits du tableau n° 6 de l'article cité :

Concentration de la solution initiale éthérée de novocaïne-base	pH final	Coefficient de partage expérimental
2,5 %	10,3	44,45
1 %	9,9	46,62
0,1 %	9,9	70,63
0,01 %	10,0	65,67

Pour les concentrations de 1% et $0,1\%$ par exemple, nous voyons que le coefficient de partage est respectivement égal à $46,62$ et $70,63$

* N. B. — Cette mesure a été faite en agitant deux volumes égaux d'éther et de solution alcalinisée de novocaïne au $1/100$. Dans ces conditions, lorsque l'équilibre est réalisé, la concentration de la novocaïne-base dans la phase aqueuse est d'environ $1/6000$ et est donc encore loin de la saturation ($1/1000$ environ).

pour un même pH 9,9. Il faudrait donc imputer ces écarts aux erreurs d'expérience. A ce propos, nous voulons faire deux petites objections à la méthode adoptée par ces deux auteurs :

a) une agitation de 16 heures d'une solution étherée de novocaïne-base, molécule très fragile et facilement hydrolysable comme nous le soulignons par ailleurs, avec une solution tampon aqueuse de pH élevé, n'est certainement pas sans inconvénient.

b) Nous avons constaté à plusieurs reprises qu'il est de beaucoup préférable de doser le composé dont on veut déterminer le coefficient de partage dans les deux phases et non simplement dans la phase aqueuse seule, la concentration dans la phase étherée étant calculée par différence, ainsi que l'ont fait EISENBRAND et PICHER (14), ceci, en raison, sans doute, des pertes qu'entraîne la volatilité du solvant. Notons que, sans avoir eu connaissance du travail de ces auteurs, nous avons employé la même méthode de dosage colorimétrique.

Nos résultats ne sont pas tout à fait en accord avec ceux de EISENBRAND et PICHER (14). Rappelons que nous avons obtenu les valeurs suivantes, à pH $\geq 10,3$.

Concentration de la solution aqueuse initiale (en chlorhydrate)	K
1/100	59,5
1/500	54,8
1/1000	53,7
1/10.000	42

De plus, nous constatons une diminution nette du coefficient de partage avec la dilution alors qu'il semble plutôt augmenter pour les auteurs cités.

Il convient cependant de noter que les protocoles d'expérience n'ont pas été identiques : EISENBRAND et PICHER (14) se sont placés au point de vue théorique en expérimentant avec des solutions de novocaïne-base dans l'éther; nous nous sommes placé d'un point de vue pratique, utilisant des solutions de l'anesthésique sous sa forme usuelle de chlorhydrate. Nous avons, d'ailleurs, fait une expérience identique à celle de EISENBRAND et PICHER (14) avec une solution de novocaïne-base au 1/100 dans l'éther, et nous avons trouvé à pH = 11, K = 49,5, résultat comparable à celui obtenu par ces deux auteurs et assez éloigné de celui auquel nous étions arrivé, pour la même concentration, en partant du chlorhydrate. L'action du chlorure de sodium ne pouvant être mise en cause puisque celui-ci tend plutôt à diminuer le coefficient de partage, comme nous l'avons vu précédemment, il semble donc que la base se comporte différemment selon la forme sous laquelle elle a été mise en expérience : forme cristallisée ou bien gouttelettes huileuses finement divisées provenant de sa précipitation à partir du chlorhydrate.

REMARQUE 5. — Pour les autres anesthésiques locaux du groupe des amino-alcools, les coefficients de partage sont bien plus élevés.

C'est ainsi que celui de la larocaïne-base entre l'éther et l'eau est de l'ordre de 4.000 et celui de la butelline-base de 8.000 environ. Leur extraction à l'éther ordinaire sera donc très facile.

Nous avons obtenu ces résultats en opérant comme nous l'avions fait pour la novocaïne. Cependant, dans les deux cas, il a été nécessaire d'agiter plus longuement dans l'ampoule à décantation et de laisser reposer un temps beaucoup plus long pour obtenir deux phases parfaitement limpides. Nous avons alcalinisé avec le carbonate de sodium jusqu'à pH 11,5, de manière à obtenir le coefficient de partage correspondant très certainement à la libération totale de la base, tout en évitant l'hydrolyse qu'aurait risqué de provoquer une alcalinisation plus poussée. La méthode de CHÉRAMY (15) (voir p. 56) de dosage colorimétrique de la novocaïne a été appliquée sans modification, avec succès, à la larocaïne et à la butelline.

2° LE BENZÈNE :

Nous avons opéré dans les mêmes conditions que pour l'éther (concentration = 1/10.000 — t = 22° à 25°) en faisant varier la nature de l'alcali. Voici les résultats de nos expériences :

TABLEAU II

pH	8,1	8,3	9,1	9,3	9,4	9,5	10,3	10,7	11,5	11,5
K	9,25	10,3	40	41,9	48,3	47	50,5	52	51	51

Comme précédemment, nous construisons la courbe représentant les variations de K en fonction du pH : courbe 2 (graphiques I et II).

Le maximum de coefficient de partage est ici de 52 environ pour un pH de 10,3.

3° LE CHLOROFORME * :

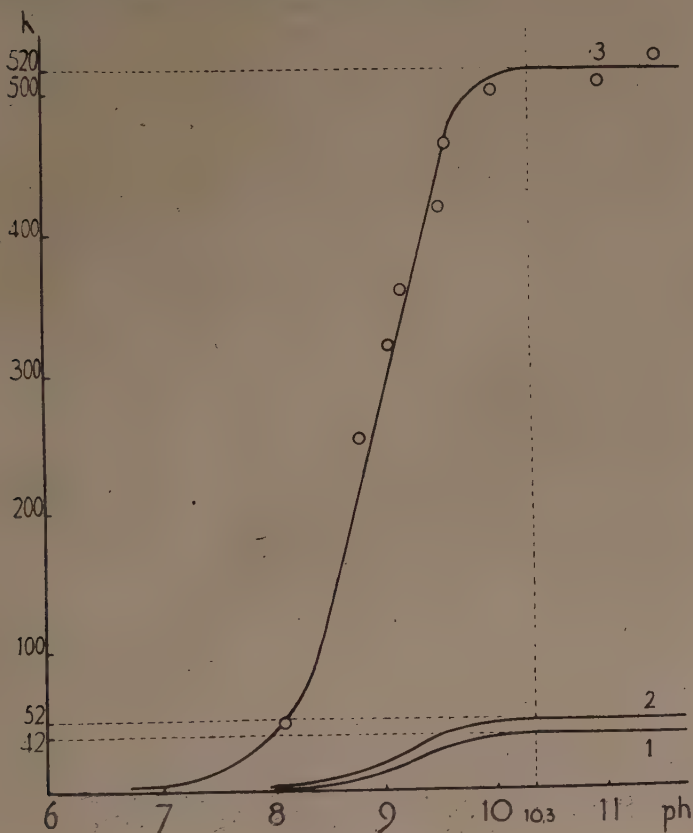
Voici nos résultats expérimentaux obtenus dans les mêmes conditions que précédemment :

TABLEAU III

pH	8,1	8,8	9,1	9,25	9,5	9,6	10	11	11,5
K	49	263	320	360	422	466	500	505	539

* 126 g de novocaïne-base sont solubles dans 100 cm³ de chloroforme à la température de 20°.

La courbe 3 (graphique II) rend compte de ces résultats. Remarquons que l'échelle des ordonnées est dix fois plus petite que dans le graphique I. Le coefficient de partage atteint la valeur de 520 environ au pH 10,3.



GRAPHIQUE II

Courbes représentatives des variations du coefficient de partage de la novocaïne-base.

Courbe 1, entre l'éther et l'eau,

Courbe 2, entre le benzène et l'eau,

Courbe 3, entre le chloroforme et l'eau,

en fonction du pH — Concentration initiale de la solution aqueuse : $1/10.000$ — $t^{\circ} = 22^{\circ}$ à 25° .

4° MÉLANGE CHLOROFORME-ALCOOL ISOPROPYLIQUE :

Nous avons pu constater que la présence d'alcool isopropylique augmenté notablement le coefficient de partage de la novocaïne entre le chloroforme et l'eau. L'alcool isopropylique étant soluble à la fois dans l'eau et dans le chloroforme, le phénomène sera compliqué par un deuxième partage, celui de cet alcool entre les deux phases. Pour pouvoir donner un chiffre, il est donc indispensable de spécifier les conditions opératoires. Nous avons effectué nos expériences exactement dans les mêmes conditions de volume et de concentration qu'indiquent SCHOU et ABILDGAARD (7) et que nous avons déjà exposées (p. 18), et nous avons trouvé, à la première extraction, un coefficient de partage égal à 800 environ dès que le pH atteint 10,3. Au second lavage, ce coefficient est encore augmenté par suite du nouvel apport d'alcool isopropylique.

De ces quatre séries d'expériences, nous pouvons conclure que le chloroforme est le meilleur liquide extracteur de la novocaïne, et que cette qualité est encore améliorée par l'addition d'alcool isopropylique. Notons cependant que l'éther et le benzène sont encore de bons solvants de la novocaïne-base.

II. Étude des liquides extracteurs de l'acide *p.* aminobenzoïque.

1° L'ÉTHER * :

Nous avons étudié, comme nous l'avons fait pour la novocaïne, la variation du coefficient de partage de l'acide *p.* ami-

* 3,33 g d'acide *p.* aminobenzoïque sont solubles dans 100 cm³ d'éther à 20°. Ce résultat, que nous avons soigneusement vérifié par trois déterminations successives, est très éloigné de ceux obtenus par ECHSNER DE CONINCK (16) en 1895 : 6,414 g d'acide à 27° et 8,210 g à 50° dans 100 cm³ d'éther. Les températures d'expérience sont plus basses que la nôtre, mais la solubilité, ainsi que nous l'avons également constaté, croît avec la température.

nobenzoïque entre l'éther et l'eau en fonction du pH . Les variations de celui-ci ont été obtenues grâce à l'addition de quantités croissantes d'acide chlorhydrique dilué ou de soude diluée. Les tableaux suivants résument les résultats obtenus avec des solutions à 1/1.000 et à 1/10.000 d'acide p . aminobenzoïque, à la température de 14° :

TABLEAU IV
Concentration 1/1000

pH	1,3	2,3	2,75	3,2	3,4	3,5	3,8	4,25	4,7	6,1
K	0,4	1,6	2,6	3,75	3,95	4	3,7	2,85	1,58	0,14

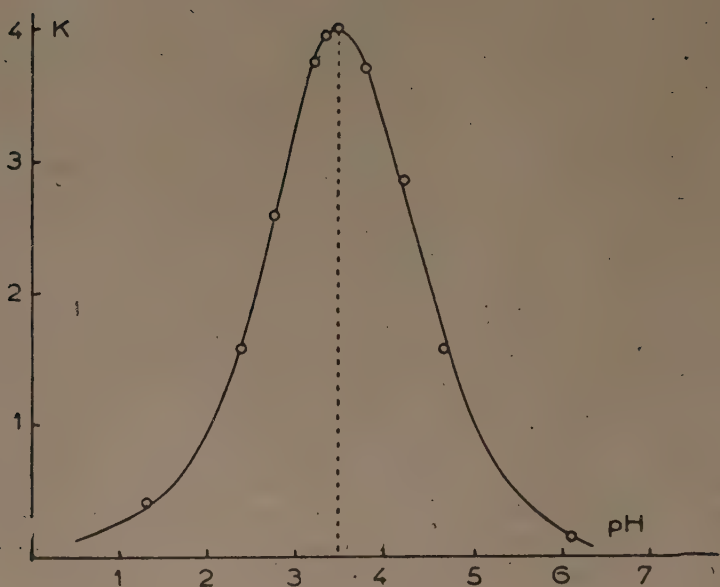
TABLEAU V
Concentration 1/10.000

pH	1,5	2,2	2,65	3,1	3,5	3,6	4,7	5,2	6,15	7,25
K	0,4	2,2	2,9	3,9	4,1	4,05	2,7	1,2	0,14	0

Nous avons représenté sur le graphique III les résultats obtenus pour la concentration de 1/1.000. Nous avons jugé inutile de tracer également la courbe représentative des variations de K en fonction du pH pour la concentration de 1/10.000. Cette courbe est très voisine de celle que nous donnons. Les variations de concentration ont, en effet, une faible influence sur le coefficient de partage dans le cas des solutions très diluées. En particulier, le maximum est de 4 pour une concentration initiale de la solution d'acide p . aminobenzoïque de 1.000 et de 4,1 pour une concentration de 1/10.000.

Le coefficient de partage passe par un maximum pour le pH 3,5. C'est, comme nous l'ont montré plusieurs déterminations, le pH des solutions aqueuses pures de cet acide * ;

* Dès 1900, IMBERT et ASTRUC (17) avaient noté que l'acide p . aminobenzoïque était « sensiblement acide à l'hélianthine » dont la zone de virage va de 4,4 à 3,1.



GRAPHIQUE III

Courbe représentative des variations du coefficient de partage de l'acide *p*. aminobenzoïque entre l'éther et l'eau, en fonction du pH — Concentration_a initiale de la solution aqueuse 1/1000 — $t = 24^{\circ}$.

il correspond au point isoélectrique de cet ampholyte *. A ce pH, en effet, celui-ci est entièrement libre et sa solubilité dans l'eau est minimum (2,5/1.000 à 15°). Lorsqu'on s'en écarte, une proportion croissante du produit salifie ou est salifiée et sous ces formes, il est très soluble dans l'eau et insoluble dans l'éther, la forme libre ayant seule une solubilité notable dans ce solvant.

Remarquons que SCHOU et ABILDGAARD (7) ont déjà obtenu une courbe de même allure en portant en abscisse les volumes

* Cette valeur du pH_i que nous avons ainsi déterminée par une voie indirecte est bien en accord avec les résultats des nombreux auteurs qui se sont occupés des propriétés électrochimiques de cet ampholyte. C'est ainsi, par exemple, que HAHN et KLOCKMANN (18) ont trouvé ce pH_i égal à 3,48.

d'acide chlorhydrique N ajoutés à la solution avant de procéder à l'extraction de l'acide *p.* aminobenzoïque, et en ordonnée les volumes de soude N/10 nécessaires pour salifier l'acide ainsi extrait et ils ont trouvé que le maximum est atteint pour des quantités d'acide chlorhydrique communiquant à la phase aqueuse un *pH* compris entre 3,3 et 3,5.

2° LE BENZÈNE :

Une expérience préliminaire nous ayant montré que le coefficient de partage de l'acide *p.* aminobenzoïque entre le benzène et l'eau est très faible, nous n'avons pas jugé utile de déterminer sa valeur, le benzène ne pouvant être envisagé comme liquide extracteur de cet acide.

3° LE CHLOROFORME :

Ce liquide est également un mauvais extracteur de l'acide *p.* aminobenzoïque. Mais, le coefficient de partage de cet acide entre le chloroforme et l'eau est le seul qui, à notre connaissance, ait déjà été mesuré. En effet, SCHOU et ABILDGAARD (7) le donnent égal à 1/4 au *pH* 3,5. Nous avons fait à notre tour cette mesure, et nous avons trouvé les résultats suivants (concentration = 1/10.000, *t* = 22°) :

TABLEAU VI

<i>pH</i>	3	3,3	3,5	4,1
K	0,086	0,10	0,11	0,08

Quoi qu'il en soit, le chloroforme ne peut servir de liquide extracteur de l'acide *p.* aminobenzoïque.

4° MÉLANGE CHLOROFORME-ALCOOL ISOPROPYLIQUE :

La présence d'alcool isopropylique augmente considérablement le coefficient de partage. Comme nous l'avons déjà dit à propos de la novocaïne, pour donner un chiffre, il faut

opérer dans des conditions bien déterminées, et, comme pour la novocaïne, nous nous sommes placé exactement dans les conditions observées par SCHOU et ABILDGAARD (7) pour effectuer leur extraction (voir p. 18). Nous avons donc fait trois lavages d'une solution d'acide *p.* aminobenzoïque avec le mélange extracteur en milieu carbonate de sodium de manière à obtenir la même concentration en alcool isopropylique. Puis, passant au pH 3,5 grâce à l'acide chlorhydrique 2 N en présence de méthylorange, nous avons agité avec un volume double de liquide extracteur (compte tenu de l'addition chlorhydrique) et nous avons déterminé le coefficient de partage de l'acide *p.* aminobenzoïque entre la couche chloroformique et la couche aqueuse. Nous avons trouvé :

$$K = 2,8$$

Une seconde agitation avec une nouvelle quantité de mélange extracteur (donc après un nouvel apport d'alcool isopropylique) nous a donné :

$$K = 3$$

5° MÉLANGE ÉTHER-ALCOOL ISOPROPYLIQUE :

Constatant ainsi l'accroissement considérable de K entre le chloroforme et l'eau par addition d'alcool isopropylique, nous avons essayé d'améliorer, de la même manière, le coefficient de partage entre l'éther et l'eau. Mais, l'addition d'un volume d'alcool isopropylique égal au $1/10$ du volume de la solution aqueuse d'acide *p.* aminobenzoïque à $1/10.000$ nous a donné :

$$K = 4,6 \text{ (au lieu de } 4,1 \text{) à } pH = 3,5$$

c'est-à-dire une amélioration trop faible pour être retenue.

C'est donc l'éther pur qui, parmi les solvants examinés, est le meilleur liquide extracteur de l'acide *p.* aminobenzoïque.

Conclusion :

L'étude systématique des coefficients de partage faite au cours du présent chapitre nous conduit aux conclusions suivantes :

1° Lorsque l'on aura à extraire la novocaïne de ses solutions aqueuses, il sera théoriquement préférable d'employer comme solvant le chloroforme et encore mieux le mélange chloroforme-alcool isopropylique; mais pratiquement, l'éther et le benzène peuvent parfaitement être employés, les coefficients de partage étant encore élevés.

2° Pour extraire l'acide *p.* aminobenzoïque, l'éther est, incontestablement, le solvant qui devra être choisi, de préférence même au mélange chloroforme alcool-isopropylique qui fournit des coefficients de partage plus faibles.

3° Lorsque novocaïne et acide *p.* aminobenzoïque devront être extraits d'une même solution aqueuse, on choisira donc, naturellement, l'éther comme liquide d'extraction des deux composés.

CHAPITRE III

RECHERCHE DE L'ALCALI ET DE L'ACIDE A EMPLOYER POUR DÉPLACER LA NOVOCAÏNE-BASE ET L'ACIDE *p.* AMINOBENZOÏQUE

I. L'alcali :

A la diversité des liquides extracteurs proposés par les divers auteurs qui se sont occupés de la question, nous pouvons ajouter la diversité des alcalis utilisés pour déplacer la novocaïne-base de son chlorhydrate. Rappelons que :

La soude N a été utilisée par DUNLOP (6), et THIEULIN (1) emploie également une solution de soude dont il ne précise pas le titre.

Le carbonate de sodium a été employé par SCHOU et ABILDGAARD (7).

L'ammoniaque a été utilisée par SCHULEK et VASTAGH (2), par F. et J. GIRAULT (4) et par HARTLEY (8).

Enfin, WILLSTAEDT (5) s'est servi du carbonate acide de sodium.

Nous avons déjà signalé que la novocaïne est une molécule assez fragile et qu'elle est facilement hydrolysée. Cette hydrolyse est particulièrement bien mise en évidence par les essais de divers alcalis que nous avons faits avec un appareil à extraction continue et que nous exposerons au chapitre suivant (voir p. 45). Ces expériences montrent que tous les alcalis provoquent, dans les conditions de l'expérience (à la température d'ébullition de l'éther), une hydrolyse plus ou moins poussée de la novocaïne. Mais même à froid, l'hydro-

lyse est encore à redouter pour des pH supérieurs à 12 (voir p. 22). Le choix de l'alcali est donc délicat. C'est le borate de sodium que nous préconisons dans les deux cas. En effet, ce sel communique à ses solutions saturées un pH de 9,5. Quelle que soit la quantité de borate que nous emploierons, nous serons sûr de ne pas dépasser ce pH . A froid, dans l'ampoule à décantation, cet alcali ne provoque pas d'hydrolyse. Dans l'appareil à extraction continue, nos expériences ont montré qu'il n'occasionne qu'une hydrolyse pratiquement négligeable. Remarquons que ce pH 9,5 ne permet pas de bénéficier du maximum de coefficient de partage qui est atteint pour le pH 10,3. Mais, en nous reportant aux graphiques I et II, nous pouvons voir que la diminution de K est faible et sans importance (pour l'éther, par exemple, 40,8 au lieu de 42). Avec le carbonate acide de sodium qu'a employé WILLSTAEDT (5) cette diminution est, par contre, trop importante.

II. L'acide :

Pour l'extraction de l'acide p . aminobenzoïque, l'acide chlorhydrique a été utilisé à l'état pur par THIEULIN (1) et en solution 2 N par SCHOU et ABILDGAARD (7). Mais le premier auteur ne s'est pas rendu compte qu'il était nécessaire de se placer au pH 3,5; il se contentait d'ajouter de l'acide chlorhydrique jusqu'à rougissement du papier de tournesol. Les deux autres auteurs ayant extrait la novocaïne de la solution en milieu carbonate de sodium, se placent au pH 3,3—3,5 en versant de l'acide chlorhydrique 2 N jusqu'à début de coloration rouge du méthylorange. Nous avons repris ces expériences et nous avons constaté qu'il était assez difficile d'obtenir par cette méthode un pH voisin de 3,5, une seule goutte d'acide chlorhydrique 2 N en excès produisant des variations considérables de pH .

Nous proposons de substituer à l'acide chlorhydrique un acide plus faible dont le pK soit proche de 3,5, l'acide for-

mique, par exemple, dont le pK est égal à 3,69. A ce pH , le pouvoir tampon de cet acide est maximum. Par conséquent, ce pH étant atteint, l'addition d'un léger excès d'acide formique à la solution à épuiser ne produira pas une variation brutale de pH comme le fait l'acide chlorhydrique 2 N; il sera donc bien plus facile de se placer à proximité du pH 3,5 recherché.

Comme indicateur coloré, on peut utiliser, à l'exemple de SCHOU et ABILDGAARD (7), le méthylorange dont la zone de virage est comprise entre 3,1 et 4,4 ou bien encore le bleu de bromophénol dont la zone de virage est comprise entre 3 et 4,6.

Dans le liquide à épuiser, on ajoute donc quelques gouttes d'indicateur coloré, le méthylorange par exemple, et de l'acide formique plus ou moins dilué selon le cas, jusqu'à début de coloration rouge.

Nous avons obtenu également de bons résultats en substituant à l'acide formique l'acide malique dont le pK de la première fonction acide est égal à 3,46, et même l'acide tartrique dont le pK de la première fonction est égal à 3,01.

La présence d'indicateur coloré dans la solution pourra gêner lorsque, comme ce sera notre cas, le dosage final de l'acide p . aminobenzoïque sera effectué par colorimétrie. Aussi avons-nous utilisé, à la place de l'indicateur en solution, des papiers au méthylorange, procédé qui nous a donné pleine satisfaction.

Remarquons également que l'acide formique est partiellement entraîné par l'éther; mais il n'en résulte pas une variation sensible du pH et notre méthode de dosage colorimétrique de l'acide p . aminobenzoïque n'est pas affectée par la présence de cet acide.

Enfin notons bien que cette méthode permet de se placer aussi près que possible du pH 3,5, mais pas rigoureusement à ce pH .

CHAPITRE IV

CONDITIONS D'EXTRACTION DE LA NOVOCAÏNE ET DE L'ACIDE *p.* AMINOBENZOÏQUE A PARTIR DE LEURS SOLUTIONS AQUEUSES

On peut employer soit la simple ampoule à décantation, soit un appareil à extraction continue.

I. Emploi de l'ampoule à décantation.

Au cours de cette étude, nous utiliserons la formule suivante que nous empruntons à JAULMES (19) :

$$\frac{C_n}{C_o} = \left(\frac{M}{M + NK} \right)^n \quad (1)$$

dans laquelle M est le volume de la solution aqueuse de concentration C_o , C_n la concentration finale de la phase aqueuse après n lavages avec N centimètres cubes d'éther, K le coefficient de partage.

Cette formule nous permettra de calculer le nombre de lavages devant être effectués pour extraire une proportion voulue du corps dissous.

1° NOVOCAÏNE :

Extraction à l'éther : supposons que nous ayons à épuiser 50 cm³ de solution aqueuse de novocaïne. L'application de la formule ci-dessus en prenant $K = 40$, montre que théoriquement 3 lavages avec 11 à 12 cm³ d'éther suffisent pour extraire 99,9 % de la novocaïne contenue dans la solution. Pratiquement, trois lavages avec 20 cm³ d'éther per-

mettent une extraction totale de cet anesthésique aussi bien en solution concentrée qu'en solution diluée, ainsi que nous l'avons vérifié sur une solution au 1/20; la concentration de la novocaïne dans la couche aqueuse épuisée a été inférieure à 1/20.000.

Avec le chloroforme, l'extraction sera théoriquement plus facile, et encore plus avec le mélange chloroforme-alcool isopropylique. Cependant, pratiquement, on ne peut employer un trop faible volume de solvant et il est nécessaire de faire toujours deux, ou, mieux, trois lavages (ainsi que l'ont fait SCHOU et ABILDGAARD (7) pour bien rincer l'ampoule et éviter toute perte. L'emploi de l'éther est donc, finalement, aussi avantageux que celui des autres solvants.

2° ACIDE *p*. AMINO BENZOÏQUE :

Nous utiliserons l'éther, ainsi que nous l'avons déjà dit. Rappelons que, avec ce solvant, le coefficient de partage passe par un maximum de 4 pour un *pH* égal à 3,5 et pour les solutions diluées (dans la pratique, l'acide *p*. aminobenzoïque résultant d'une altération de la novocaïne est en général en faible quantité).

Soit à extraire 99,9 % de l'acide *p*. aminobenzoïque de 50 cm³ de solution. Calculons, grâce à la formule 1, le nombre de lavages à effectuer avec 50 cm³ d'éther :

$$\frac{1}{1.000} = \left(\frac{50}{50 + 50 \times 4} \right)^n$$

$$\frac{1}{1.000} = \left(\frac{1}{5} \right)^n$$

$$\log \frac{1}{1.000} = n \log \frac{1}{5}$$

$$-3 = n \times -0,69897$$

$$n = \frac{3}{0,69897} \text{ sensiblement égal à } 4$$

Mais l'acide *p.* aminobenzoïque extrait se trouve alors contenu dans 200 cm³ d'éther.

Si nous ne voulons effectuer les lavages qu'avec 25 cm³ d'éther, un calcul analogue montre qu'il faut effectuer six extractions pour avoir le même rendement que précédemment. L'acide *p.* aminobenzoïque extrait sera alors contenu dans 150 cm³ d'éther. Donc, si l'on veut extraire pratiquement tout l'acide *p.* aminobenzoïque contenu dans une solution, il faut épuiser celle-ci avec au moins quatre fois son volume d'éther ou six fois la moitié de son volume d'éther, etc...

Remarquons toutefois que ce calcul a été effectué pour le cas théorique où nous serions exactement au *pH* 3,5. Nous avons vu, dans le chapitre précédent, une méthode qui permet seulement de se rapprocher de ce *pH*. Le coefficient de partage sur lequel il faut compter est donc un peu inférieur à 4, et il sera en fait nécessaire, si l'on veut une extraction parfaite, d'effectuer, ainsi que nous l'avons vérifié en recherchant l'acide *p.* aminobenzoïque dans la solution épuisée, un lavage de plus que le nombre donné par le calcul.

REMARQUE. — SCHOU et ABILDGAARD (7) ont préconisé 3 lavages de la solution d'acide *p.* aminobenzoïque avec le double de son volume de mélange chloroforme-alcool isopropylique. Sachant que le coefficient de partage est égal dans ce cas à 3 en moyenne, nous pouvons calculer, grâce à la formule 1, le rendement de cette extraction :

$$\frac{C_n}{C_o} = \left(\frac{M}{M + 2 M \times 3} \right)^3$$

$$\log \frac{C_n}{C_o} = 3 \log \frac{1}{7}$$

$$\text{d'où} \quad \frac{C_n}{C_o} = \frac{1}{367}$$

Il ne restera dans la phase aqueuse que 1/367 de la quantité de novocaïne mise en expérience, ce qui constitue un très bon rendement. Mais, pour l'obtenir, les auteurs ont dû employer un volume relativement considérable d'un solvant très spécial.

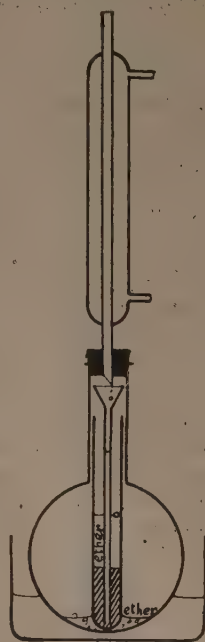
II. Emploi d'un appareil à extraction continue.

1^o ACIDE *p*. AMINOBENZOÏQUE :

L'extraction de l'acide *p*. aminobenzoïque à l'aide de l'ampoule sera donc assez longue, et délicate lorsque la solution à épuiser aura tendance à donner des émulsions avec l'éther. C'est pourquoi nous avons envisagé l'emploi d'un appareil à extraction continue. Plusieurs modèles en ont été proposés. Nous avons choisi l'appareil simple dont JAULMES (19) préconise l'emploi pour l'extraction de l'acide succinique des vins.

Cet appareil se compose d'un ballon à fond rond dans lequel on introduit un gros tube à essais percé dans sa partie médiane d'un trou situé à un niveau convenable. Dans notre appareil, ce trou était situé à peu près au point d'affleurement de 70 cm³ de liquide. Dans ce tube plonge jusqu'au fond la douille biseautée d'un petit entonnoir chargé de recevoir l'éther condensé dans le réfrigérant qui surmonte le ballon. Enfin le tube à essais est percé à son extrémité supérieure de deux trous dans lesquels passe un petit fil métallique permettant de retirer l'ensemble tube à essais-entonnoir. Le liquide à extraire est mis dans le tube à essais, l'éther dans le ballon. Ce dernier est chauffé au bain-marie de manière à obtenir une ébullition modérée de l'éther.

L'éther condensé dans le réfrigérant est amené par la douille de l'entonnoir à la partie inférieure du liquide à épuiser dans lequel il barbote goutte à goutte et retourne dans le ballon par le trou percé dans la partie médiane du tube. Nous avons ainsi une extraction continue.



Appareil
à extraction continue

Cet appareil présente l'avantage de n'exiger pas plus d'une quarantaine de centimètres cubes d'éther et par conséquent, l'acide *p.* aminobenzoïque extrait sera dissous dans un bien plus faible volume d'éther que si nous avions fait l'extraction à l'ampoule. En outre, il ne se produit pas d'émulsion gênante avec les liquides ayant tendance à en donner facilement (comme par exemple l'urine non déféquée ainsi que nous avons pu en faire l'expérience).

Le calcul permet de déterminer le minimum de centimètres cubes d'éther qui doivent traverser 50 cm³ de solution aqueuse à 1/1.000, au pH 3,5, pour en extraire 99,9 % de l'acide *p.* aminobenzoïque.

Nous utiliserons la formule suivante dérivant des lois de l'entraînement à la vapeur d'eau et donnée par JAULMES (19) :

$$N \geq 2,303 \frac{M}{K} \log \frac{1}{f} \quad (2)$$

N étant le volume d'éther devant traverser la solution à épuiser, M le volume de cette solution, K le coefficient de partage entre l'éther et l'eau de la substance à extraire et f l'erreur relative.

$$N \geq 2,303 \frac{50}{4} \log \frac{1}{1/1.000}$$

$$N \geq \frac{2,303 \times 50 \times 3}{4}$$

$$N \geq 86 \text{ cm}^3.$$

Ce nombre est, répétons-le, un minimum, car :

a) Le calcul précédent suppose que le volume d'éther qui surmonte la phase aqueuse est très faible. Comme ce volume est assez important dans notre cas (environ 20 cm³), le nombre minimum de centimètres cubes d'éther qui doit traverser la couche aqueuse est augmenté.

b) La formule précédente suppose également que l'équilibre des concentrations de l'acide *p*. aminobenzoïque dans l'éther et dans l'eau est atteint lors du rapide passage des gouttes d'éther à travers le liquide à épuiser; ce qui n'est évidemment pas tout à fait exact. Il faudrait en réalité tenir compte du coefficient de barbotage de l'appareil.

c) Le *pH* obtenu par la méthode précédemment exposée n'est pas exactement égal à 3,5 et, comme le montre la courbe 4 (graphique III), de petites variations de *pH* entraînent des variations sensibles de coefficient de partage.

Signalons également l'influence, faible il est vrai, de la température sur le coefficient de partage, car nous opérons ici à 35°, température d'ébullition de l'éther.

En fait, nos expériences ont montré qu'avec l'appareil que nous avons utilisé il était nécessaire de prévoir une durée d'extraction de une heure et demie.

Pour déterminer cette durée, nous avons effectué plusieurs épuisements de 50 cm³ d'une solution aqueuse d'acide *p*. aminobenzoïque au 1/1.000 préalablement amenée au *pH* 3,5 grâce à l'acide formique en faisant varier chaque fois le temps de fonctionnement de l'appareil. Nous avons pu déterminer ainsi le temps au bout duquel la couche aqueuse ne présente plus qu'une concentration de 1/1.000.000 environ. Et nous avons trouvé une heure et demie. En une heure et demie par conséquent les 99,9 % de l'acide *p*. aminobenzoïque sont passés en solution dans l'éther.

2° NOVOCAÏNE :

La novocaïne ayant un coefficient de partage entre l'éther et l'eau suffisamment élevé, son extraction à l'appareil à extraction continue ne présente en général aucun avantage.

Cependant, dans le cas où le liquide à épuiser donne facilement des émulsions avec l'éther, l'appareil que nous avons décrit précédemment peut encore rendre des services; aussi

avons-nous également étudié l'extraction de la novocaïne à l'aide de cet appareil*.

Introduisant 50 cm³ de novocaïne à 1/1.000 dans le tube de l'appareil, nous avons déterminé :

a) L'alcali à employer pour déplacer la novocaïne-base.

b) Le temps minimum d'épuisement nécessaire avec cet alcali.

Les alcalis essayés ont été la soude, le carbonate de sodium, l'ammoniaque, et le borate de sodium en cristaux. Voici quelles sont les proportions de novocaïne que nous sommes parvenu à extraire dans ces divers cas (entre parenthèses, nous avons indiqué la quantité de base ajoutée dans les 50 cm³ de solution de novocaïne) :

HONa (2 cm ³ de la solution N)	87,5 %
CO ₃ Na ₂ (1 g)	92 % — 93 %
HONH ₄ (5 cm ³ de la solution officinale)	89,3 %
HONH ₄ (1 cm ³ de la solution officinale)	96,8 %
HONH ₄ (10 gouttes de la solution officinale) ...	98 %
B ₄ O ₇ Na ₂ , 10 OH ₂ (à saturation)	99,7 %

Remarquons qu'une extraction plus prolongée ne permet pas une amélioration de ces pourcentages; c'est que la novocaïne, sous l'action de l'alcali à température d'ébullition de l'éther, a subi une hydrolyse et l'acide *p*. aminobenzoïque qui a pris naissance et se trouve sous forme de sel de sodium dans la phase aqueuse, ne peut être entraîné par l'éther. C'est cet acide que nous avons dosé chaque fois et nous en avons déduit la quantité de novocaïne qui avait été extraite.

A la lumière de ces expériences, c'est le borate de sodium en cristaux que nous avons choisi. Il permet, en saturant la solution à épuiser, une extraction pratiquement totale

* Rappelons que WILLSTAEDT (5) a utilisé un appareil de Soxhlet pour extraire la novocaïne des muscles (voir p. 18).

de la novocaïne; au contraire, un excès des autres alcalis, en communiquant à la solution un pH trop élevé, risque de provoquer une hydrolyse plus ou moins poussée de cette molécule.

Deux ou trois petits cristaux de borate sont ajoutés à la solution de novocaïne dans le tube de l'appareil qui est aussitôt mis en marche. Le borate se dissout peu à peu et libère progressivement la novocaïne-base qui est extraite par l'éther au fur et à mesure. Ceci explique que, dans ces conditions, malgré le coefficient de partage élevé de la novocaïne entre l'éther et l'eau, le temps minimum d'extraction est encore de une heure un quart à une heure et demie.

Quelle que soit la méthode d'extraction utilisée parmi celles que nous venons de décrire, nous obtenons des solutions éthérées de novocaïne-base d'une part et d'acide p . aminobenzoïque d'autre part.

Si nous avons employé l'ampoule à décantation, l'éther provenant des lavages successifs est soigneusement réuni dans une même ampoule à décantation, et nous agiterons cet éther avec de l'eau chlorhydrique pour la novocaïne, de l'eau sodique pour l'acide p . aminobenzoïque. La novocaïne (chlorhydrate) et le p . aminobenzoate de sodium sont pratiquement insolubles dans l'éther et très solubles dans l'eau; leur passage quantitatif en solution aqueuse s'effectuera donc sans difficultés en une ou mieux deux agitations.

Si nous employons l'appareil à extraction continue, l'éther contenu dans le ballon est transvasé dans une ampoule à décantation, et le ballon et la partie inférieure extérieure du tube sont soigneusement lavés, tout d'abord trois fois avec quelques centimètres cubes d'éther que l'on verse également dans l'ampoule à décantation (le premier de ces éthers sera celui surmontant la phase aqueuse épuisée dans le tube de l'appareil); puis le ballon est rincé avec grand soin à trois reprises avec de l'eau chlorhydrique ou sodique selon le cas. Après lavage du ballon, cette eau sert à épuiser par trois fois l'éther dans l'ampoule à décantation.

Des expériences nous ont montré que l'éther n'enlève rien à une solution de novocaïne au pH 3,5 ni à une solution d'acide p . aminobenzoïque en milieu alcalin, que l'on utilise l'ampoule ou l'appareil à lavage continu prolongé une heure et demie. Il est donc indifférent de commencer par l'extraction de l'un ou de l'autre composé (SCHOU et ABILDGAARD (7) indiquent au contraire de commencer par l'extraction en milieu alcalin avec le mélange chloroforme-alcool isopropylique).

Nous obtenons ainsi des solutions aqueuses de novocaïne et de p . aminobenzoate de sodium que nous portons à un volume connu. Il faut maintenant y doser ces deux composés.

CHAPITRE V

I. LES MÉTHODES DE DOSAGE DE LA NOVOCAÏNE

A. Méthode physique :

FLORENTIN et HÉROS (20) décrivent un procédé d'analyse des mélanges cocaïne-novocaïne-stovaïne basé sur l'étude des spectres d'absorption dans l'ultra-violet.

B. Méthodes gravimétriques :

a) *Simple pesée de la base après évaporation du solvant extracteur* : c'est la méthode préconisée par LABAT et KER-GONOU (3) après extraction à l'éther. Cependant, HARTLEY (8) qui, lui, a utilisé le chloroforme, indique qu'un séchage à 100° serait nécessaire, mais il fait remarquer que ce chauffage à 100° provoque quelques pertes en raison de la légère volatilité de la novocaïne-base à cette température.

b) *Pesée à l'état de silico-tungstate* : C'est la méthode de Gabriel Bertrand pour le dosage des alcaloïdes qui a été appliquée par VALETTE (21) à la novocaïne. On précipite celle-ci à froid en milieu chlorhydrique N/2 à l'état de silico-tungstate de formule :



On calcine le précipité et on pèse l'anhydride silico-tungstique obtenu. On tient compte pour le calcul de la légère solubilité du silico-tungstate de novocaïne dans l'acide chlorhydrique N/2. L'auteur indique que l'approximation est de 1 %.

C. Méthodes volumétriques :

- 1° DOSAGES ALCALIMÉTRIQUES :

a) *Titration de l'acide chlorhydrique combiné :*

THOMIS et JATRIDÈS (22) dosent la novocaïne par titration directe de l'acide chlorhydrique de la molécule par la soude en présence de bleu Poirrier.

SANCHEZ (23) indique une technique basée sur le fait que, en solution hydroalcoolique déterminée (10 cm³ d'eau + 15 cm³ d'alcool à 96°), la novocaïne se comporte comme un acide monovalent vis-à-vis de la phénolphthaléine. L'alcool ajouté au milieu empêche en effet la dissociation de la base et tout se passe comme si l'acide chlorhydrique contenu dans la molécule était libre; on dose donc cet acide en présence de phénolphthaléine par une solution titrée de soude. Puis on peut doser la base libérée par une solution titrée d'acide sulfurique en présence d'acide rosolique jusqu'à coloration jaune dorée. Ce titrage peut s'appliquer également à la stovaine. L'erreur serait inférieure à 1 %.

b) *Titration de la base après extraction :*

α) procédé direct :

THOMIS (24) dose directement la novocaïne-base dans sa solution extractive chloroformique à l'aide d'une solution N/10 d'acide chlorhydrique dans l'alcool à 95°, en présence de bleu de thymol.

β) procédés par retour : plusieurs techniques ont été indiquées; elles ne diffèrent que par le détail.

SCHOU et ABILDGAARD (7) après avoir extrait la novocaïne-base par le mélange chloroforme-alcool isopropylique (voir p. 19) agitent ce dernier avec un volume connu d'acide chlorhydrique N/10 dont ils dosent l'excès par la soude ou le borate de sodium N/10, avec comme indicateur une goutte de bleu de méthylène et 2 gouttes de rouge de méthyle.

F. et J. GIRAULT (4) extraient la novocaïne-base par l'éther en milieu ammoniacal (voir p. 18) et agitent la solution étherée, convenablement lavée, avec un volume connu d'acide chlorhydrique N/10 dont ils dosent l'excès par la soude N/10 en présence de rouge de méthyle. Cette technique a été également appliquée par les auteurs à la stovaïne et à la larocaïne. L'erreur, en ce qui concerne la novocaïne, est inférieure à 2 %.

SCHULEK et VASTAGH (2) après avoir extrait la novocaïne par le chloroforme (voir p. 18) évaporent au 1/10, ajoutent un excès connu d'acide chlorhydrique N/50, puis chassent le reste du solvant par ébullition jusqu'à ce que l'odeur n'en soit plus perceptible, et ils dosent l'excès d'acide par la soude N/50 en présence de rouge de méthyle.

HARTLEY (8) emploie une technique tout à fait identique mais il évapore complètement le solvant avant de traiter par un excès d'acide sulfurique N/10.

c) *Titration après distillation :*

Dans ce procédé indiqué par MATCHETT et LEVINE (25) la base est déplacée de son chlorhydrate par la soude, et la solution est distillée; le distillat est reçu dans une quantité connue d'acide chlorhydrique N/10 dont on détermine l'excès par la soude N/10.

2° DOSAGE PAR LA MÉTHODE DE KJELDAHL :

Ce procédé a été utilisé par GALLAIS (26) et par CASTEL et DUMAS (27) pour le dosage de la novocaïne et de la stovaïne, avec une erreur inférieure à 1 %. Les derniers auteurs ont également obtenu des erreurs plus petites que 1 % avec d'autres anesthésiques locaux tels que la butelline, l'orthoforme et l'alypine, ainsi qu'avec l'acide *p.* aminobenzoïque; avec la panthésine et la percaïne l'erreur est légèrement supérieure à 1 %.

3° DOSAGÈS BROMOMÉTRIQUES :

Plusieurs techniques ont été données; elles sont basées sur le fait que la novocaïne donne sous l'action du brome un dérivé dibromé en 3-5 sur le noyau aromatique.

a) *Technique de SANCHEZ* (28) : Le principe en est le suivant : la novocaïne donne avec l'eau de brome un précipité jaune cependant que l'eau de brome est décolorée. On peut donc déterminer quel est le volume de solution de novocaïne à doser et le volume d'une solution étalon de novocaïne pure nécessaires pour décolorer deux prises d'essai identiques d'eau de brome à 0,8/1.000. La comparaison des deux volumes permet de déterminer le titre cherché.

Les procédés de HAAG (29) et de R. A. et R. L. HATCHER (30) ne diffèrent du précédent que par le détail.

b) *Technique de FIJALKOW et JAMPOLSKA* (31 et 32) : On traite une prise d'essai de quelques centigrammes de novocaïne à doser par un excès connu (25 cm^3) de solution de bromate de potassium N/10, plus un gramme de bromure de potassium, plus 20 cm^3 d'acide chlorhydrique 3 N dans un flacon bouché émeri que l'on ferme aussitôt. On laisse quinze minutes en contact, puis on ajoute un excès connu (30 cm^3) d'une solution d'arsénite de sodium N/10 qui neutralise l'excès de brome et on titre l'excès d'arsénite à l'aide de la solution N/10 de bromate de potassium en présence d'une à deux gouttes de rouge de méthyle jusqu'à décoloration. $1 \text{ cm}^3 \text{ BrO}_3\text{K N/10}$ correspond à 0,006815 g de novocaïne. Ce dosage s'applique également à tous les anesthésiques locaux analogues dérivant de l'acide *p*. aminobenzoïque.

c) *La technique de ROSSI* (33) ne diffère guère de la précédente que par la manière de déterminer l'excès de brome : on ajoute un excès d'iodure de potassium et on dose l'iode libéré par le thiosulfate de sodium N/10.

C'est également, à peu de chose près, cette technique que VALENCIEN et DESHUSSES (34) ont employée.

4° DOSAGE IODOMÉTRIQUE :

La novocaïne est susceptible de fixer l'iode comme le brome : on met donc ce composé en présence d'un volume connu d'une solution d'iode N/10. Après dix minutes de contact dans l'obscurité, on détermine l'excès d'iode par la solution de thiosulfate de sodium N/10 [RAE (35)].

5° DOSAGES MERCURIMÉTRIQUES :

Ils consistent à précipiter la novocaïne par le réactif de Mayer-Valzer et à doser soit le mercure du précipité, soit, au contraire, l'excès de réactif iodomercurique.

a) IONESCO-MATIU et Mme POPESCO (36) dissolvent le précipité dans le mélange sulfonitrique. Ils précipitent l'ion mercurique par le nitroprussiate de sodium et ils ajoutent à la burette une solution de chlorure de sodium N/10 jusqu'à clarification complète du liquide. 1 cm³ ClNa N/10 correspond à 0,2 g novocaïne.

b) MARICQ (37) ayant effectué la précipitation dans des conditions bien définies de manière à avoir un précipité de composition constante répondant à la formule HgI₂, novocaïne, HI, filtre, et dans le filtrat il dose par électrotitrimétrie l'excès de réactif à l'aide d'une solution titrée de chlorure mercurique (erreur inférieure à 2 %).

GALLAIS (26) dose l'excès d'iodomercurate de potassium, sans faire intervenir le procédé physico-chimique, soit par argentimétrie, soit par iodométrie.

D. Méthodes colorimétriques :

1° RÉACTIONS DE DIAZOTATION :

La molécule de novocaïne possédant un groupement aminogène libre, il est possible, en faisant agir l'acide nitreux, d'obtenir le diazoïque correspondant. Celui-ci est ensuite copulé en milieu alcalin à un corps phénolique variable selon les techniques, de manière à obtenir un composé azoïque forte-

ment coloré permettant un dosage colorimétrique sensible de l'anesthésique. Les copulants qui ont été utilisés sont les suivants :

Le β naphтол par LAUFFS (38), EISSNER (39), DUNLOP (6), CHAKRAVARTI et ROY (40) et HAVINGA (41).

L'acide β naphтол-6-8-disulfonique par BONNYCASTLE (42).

L'acide 1-amino-8-naphтол-3-6-disulfonique par WILLSTAED (5).

Le gâïacolsulfonate de potassium par CHÉRAMY (15), BULLOCK et MACDONALD (43) et EISENBRAND et PICHER (14).

Enfin RIEGEL et WILLIAMS (44) traitent le produit de la diazotation par l'ammoniaque provoquant ainsi l'apparition d'une coloration jaune.

2° AUTRES RÉACTIONS COLORÉES :

a) COTUI et BENAGLIA (45) indiquent une méthode rapide pour évaluer approximativement la concentration d'une solution de novocaïne : 1 cm³ de cette dernière est ajouté à 2 cm³ de solution de carbonate de sodium à 5,3/1.000 en présence de 5 gouttes d'un réactif contenant 1 % de thymolphtaléine et 0,05 % de phénolphthaléine. La coloration obtenue est comparée à une échelle colorée préalablement établie une fois pour toutes.

b) REICHARDT (46) utilise la coloration jaune que donne la novocaïne avec la vanilline en milieu acide.

c) KOSTER, SHAPIRO et POSEN (47) utilisent la même réaction mais le composé coloré formé est précipité quantitativement par l'iodomercurate de potassium. Le précipité lavé est redissous grâce au phosphate trisodique et à l'acide phosphorique et c'est cette solution colorée qui sert au dosage colorimétrique. Ce mode opératoire a l'avantage de séparer l'acide *p*. aminobenzoïque dont le composé coloré formé avec la vanilline ne précipite pas par l'iodomercurate de potassium.

d) PESEZ (48) condense la novocaïne en solution aqueuse convenablement diluée avec la pyridine en présence de bro-

mure de cyanogène : il se développe une coloration jaune et un trouble de même teinte. L'acide acétique dissout ce trouble ; au bout de quinze minutes, on obtient une coloration variant du rouge orangé au jaune que l'on compare avec une gamme étalon préparée de manière identique.

E. Méthodes indirectes :

Principe : On hydrolyse la novocaïne par chauffage en milieu sodique et on dose l'acide *p.* aminobenzoïque qui a pris naissance (et celui qui existait préalablement dans la solution ; on a ainsi la novocaïne « totale »). Dans cette catégorie se rangent la méthode de SCHULEK et FLODERER (40) et celle de HARTLEY (8). Elles seront exposées au chapitre suivant avec les autres procédés de dosage de l'acide *p.* aminobenzoïque (p. 58).

II. LA MÉTHODE DE CHÉRAMY (15)

Après l'extraction de la novocaïne, on pourra donc choisir, parmi les très nombreuses méthodes de dosage que nous venons d'exposer, celle qui convient le mieux aux conditions et aux buts de l'expérience. On pourra, en particulier, effectuer des dosages très précis grâce aux méthodes pondérales ou volumétriques.

Pour notre travail, nous avons utilisé à peu près exclusivement une méthode colorimétrique et ce choix nous a été dicté par les considérations suivantes :

1^o Cette méthode était commode pour la détermination rapide des coefficients de partage de la novocaïne-base *, car, ceux-ci étant élevés, la couche aqueuse ne renferme plus après agitation avec l'éther, lorsque l'on opère avec des con-

* Rappelons que EISENBRAND et PICHER (14) ont employé la même méthode de dosage dans le même but.

centrations peu élevées que des faibles quantités de novocaïne-base facilement dosables par colorimétrie; de même, pour la détermination du pourcentage de novocaïne extrait, par dosage de la quantité restante dans la solution épuisée.

2° Une méthode colorimétrique était seule utilisable pour l'application à l'urine que nous nous proposons de faire, car la bibliographie nous faisait prévoir que la quantité de novocaïne éliminée par la voie rénale serait faible. Il nous fallait donc un dosage très sensible. De plus, l'urine étant un milieu très complexe, le liquide extractif contient de nombreuses impuretés qui, à moins de purifications longues et minutieuses, interdisent l'application des autres dosages, et, comme nous le verrons, ne gênent pas, ou presque pas, le dosage colorimétrique.

Nos expériences ont montré que par la méthode colorimétrique choisie, l'erreur relative est au plus égale à 4 %. Cette précision a été suffisante pour la détermination des coefficients de partage ainsi que le prouve la régularité des courbes obtenues.

Parmi les méthodes colorimétriques, nous avons choisi celle de CHÉRAMY (15), cela pour deux raisons :

1° Cette méthode utilisant une réaction de diazotation est très sensible (elle permet de déceler la novocaïne dans une solution à 1/1.500.000, alors que la méthode de PESEZ (48) par exemple ne permet d'atteindre, d'après l'auteur, que 1/250.000). D'autre part, l'essai à blanc effectué en mélangeant les réactifs en l'absence de novocaïne ne donne pas de coloration appréciable, ainsi que l'a signalé CHÉRAMY (15), alors que, par exemple, avec les méthodes au β . naphthol-6-8-disulfonique l'essai à blanc donne une coloration appréciable [BULLOCK et MACDONALD (43)]. La technique que nous avons choisie sera donc plus sensible et permettra, le cas échéant, de mieux suivre l'élimination de petites quantités de novocaïne.

2° La coloration obtenue varie du rouge au jaune et elle est, à la concentration de 1/20.000, optimum pour le dosage,

d'un bel orangé plus propice à l'observation colorimétrique que la couleur jaune que donne, par exemple, la méthode de RIEGEL et WILLIAMS (44).

Technique :

On commence donc par diazoter la novocaïne par l'acide nitreux. A cet effet, à 5 cm³ de solution à doser, on ajoute 1 cm³ de nitrite de sodium à 1/100 et 1 cm³ d'acide chlorhydrique à 1/20 en agitant après chaque addition. Puis le diazoïque est copulé au gaïacolsulfonate de potassium; on ajoute pour cela 10 cm³ d'une solution de carbonate de sodium à 1/10 renfermant 1/200 de thiocol. La coloration obtenue instantanément varie du rouge au jaune, et, ainsi que nous l'avons déjà noté, se prête bien au dosage colorimétrique pour les concentrations voisines de 1/20.000. On effectuera donc ces réactions sur la solution de novocaïne à doser et sur une solution étalon de concentration convenable. On diluera si besoin est pour avoir une teinte favorable et on comparera au colorimètre.

A cette technique de CHÉRAMY (15), nous ajouterons quelques remarques :

1° L'auteur signale que la coloration obtenue est stable. Nos expériences ont montré que, effectivement, pendant une heure environ, l'intensité de la coloration reste sensiblement la même. Après une heure cependant, la diminution de la coloration devient rapidement appréciable. En outre, même dans la première heure, si l'intensité de la coloration ne varie pas, la nuance, elle, subit une légère modification : elle tire sur le jaune, ce qui rend difficile les comparaisons. Il était donc utile d'insister sur le fait qu'il faut effectuer les réactions simultanément sur le témoin et sur la solution à doser (ainsi d'ailleurs que l'a fait l'auteur) et faire la lecture immédiatement.

2° Les solutions de novocaïne s'altèrent assez rapidement et les agents de conservation ordinairement employés risquent

de fausser le dosage, tel le bisulfite de sodium qui provoque un abaissement de la teinte pouvant atteindre 20 %. Il est donc nécessaire d'utiliser une solution témoin récente.

3° En prenant les précautions que nous venons d'indiquer, l'erreur relative ne dépasse pas 4 %, à condition que les colorations que l'on compare au colorimètre soient proches l'une de l'autre.

4° Lorsque la concentration des solutions de novocaïne sera supérieure à 1/20.000, il suffira de diluer convenablement la coloration obtenue pour effectuer le dosage. Mais même lorsque la concentration sera inférieure à 1/20.000, on pourra continuer à utiliser cette technique; lorsque la comparaison au colorimètre deviendra difficile par suite de la faiblesse de la coloration, on utilisera la méthode des gammes et l'on peut ainsi, avec une précision toujours suffisante, doser de très petites quantités de novocaïne, car la réaction est extrêmement sensible, au point que l'on peut encore déceler la présence de cet anesthésique à la concentration de 1/1.500.000.

5° Les solutions extractives obtenues sont des solutions saturées d'éther. Nos expériences ont montré que la présence d'éther n'entraîne aucune gêne pour le dosage, de même d'ailleurs que la présence de benzène, de chloroforme, et d'alcool isopropylique que nous avons utilisés pour déterminer les coefficients de partage.

6° Le diéthylaminoéthanol qui a pu être extrait en même temps que la novocaïne, ne possédant pas de groupement aminogène libre, ne gêne pas le dosage.

Signalons enfin que, pour contrôler notre technique d'extraction avec des quantités relativement importantes de novocaïne, nous avons également employé, avec succès, une méthode alcalimétrique identique à celle de HARTLEY (8) (p. 47) : évaporation du solvant et dosage de la novocaïne-base par retour.

CHAPITRE VI

I. LES MÉTHODES DE DOSAGE DE L'ACIDE *p*. AMINOBENZOÏQUE

A. Méthode gravimétrique :

SCHULEK et FLODERER (49) diazotent l'acide *p*. aminobenzoïque provenant de l'hydrolyse de la novocaine et, après avoir éliminé l'excès d'acide nitreux grâce à l'urée, ils copulent le diazoïque au β naphthol en milieu sodique. L'azoïque obtenu est ensuite insolubilisé en milieu chlorhydrique, filtré, séché et pesé.

B. Méthodes volumétriques :

1^o *Dosage acidimétrique* : SCHOU et ABILDGAARD (7) après avoir extrait l'acide *p*. aminobenzoïque par le mélange chloroforme-alcool isopropylique (voir p. 19), évaporent la solution extractive, dissolvent le résidu dans très peu d'eau bouillante et titrent l'acide par la soude N/10 en présence de phénolphthaléine.

2^o *Dosage par la méthode de Kjeldahl* : CASTEL et DUMAS (27) ont dosé, comme nous l'avons dit, l'acide *p*. aminobenzoïque par kjeldahlisation avec une erreur inférieure à 1 %.

3^o *Dosage bromométrique* : une molécule d'acide *p*. aminobenzoïque est susceptible de fixer trois atomes de brome pour donner, après perte d'une molécule de gaz carbonique, une molécule de tribromoaniline. HARTLEY (8) utilise cette réaction : à la solution à titrer il ajoute un excès connu d'une

solution N/10 d'un mélange bromure-bromate puis de l'acide chlorhydrique concentré. Après 30 minutes de contact en flacon bouché, l'excès de brome est déterminé en ajoutant dans la solution un excès d'iodure de potassium et en donnant l'iode libéré par le thiosulfate de sodium N/10 en présence d'empois d'amidon.

4° *Dosage potentiométrique* [SINGH et AHMED (50)] : Ce dosage se fait à l'aide d'une solution titrée de nitrite de sodium en milieu chlorhydrique.

II. NOUVELLE MÉTHODE COLORIMÉTRIQUE

L'hydrolyse de la novocaïne étant en général légère, les quantités d'acide *p.* aminobenzoïque à doser étant par conséquent faibles, nous avons pensé qu'il serait préférable de mettre au point une méthode colorimétrique sensible, qui, comme pour la novocaïne, serait en outre commode pour la détermination des coefficients de partage et des pourcentages d'acide *p.* aminobenzoïque extrait.

Étant donné que, dans la molécule de novocaïne, c'est le groupement aminogène de l'acide *p.* aminobenzoïque qui permet la diazotation, nous avons songé à étendre la technique de CHÉRAMY (15) au dosage de ce dernier composé. A ce sujet, cet auteur écrit : « L'acide *p.* aminobenzoïque ne donne pas immédiatement, aux dilutions où nous opérons, de coloration appréciable ». Nous avons repris cette expérience avec une solution au 1/20.000 d'acide dont la pureté a été vérifiée par la méthode de CASTEL et DUMAS (27) *.

* Cet acide *p.* aminobenzoïque dont nous nous sommes servi pour toutes nos déterminations se présente sous forme de très fines aiguilles bien blanches. Nous possédons un autre échantillon de la même origine (Rhône-Poulenc) qui se présente sous forme de fines aiguilles légèrement jaunâtres. Le « Dictionary of organic compounds » (Eyre et Spottiswoode, Éditeurs, Londres, 1935) décrit l'acide *p.* aminobenzoïque comme un produit cristallisé « Yellowish-red ». Enfin SCHOU et ABILDGAARD (7) en parlent comme d'une poudre grise.

Nous avons opéré exactement comme pour le dosage de la novocaïne précédemment décrit. Dans ces conditions, il apparaît quasi instantanément une coloration dont l'intensité s'accroît rapidement pendant deux minutes environ. A ce moment, on obtient une teinte dont l'intensité est à peine plus forte que celle obtenue avec la novocaïne à la même concentration pondérale, mais tirant un peu plus sur le jaune. La stabilité n'est alors qu'apparente. En fait, l'intensité continue à croître très lentement pendant environ vingt-quatre heures, puis reste stable pendant plusieurs jours. En nous basant sur ces observations, nous avons pu doser l'acide *p.* aminobenzoïque par comparaison au colorimètre avec un témoin ou bien avec une gamme étalon comme nous l'avons fait pour la novocaïne, mais en attendant deux à trois minutes après l'ajout du dernier réactif. L'accroissement de coloration qui se produit encore à ce moment-là est très lent; il n'est sensible qu'au bout de plusieurs heures et ne gêne pas le dosage.

Remarques :

1° La coloration apparaissant quasi instantanément et se développant en deux minutes, il ne saurait être question, ainsi que l'a dit CHÉRAMY (15), de pouvoir doser par cette méthode colorimétrique la novocaïne en présence d'acide *p.* aminobenzoïque. Nous pensons que, si CHÉRAMY (15) a pu constater une diminution notable (10 %) du titre d'une solution de novocaïne à 1/200 chauffée à 120° pendant une heure, cette diminution était due au fait que la novocaïne en s'hydrolysant donne naissance à la moitié de son poids environ d'acide *p.* aminobenzoïque. Or, comme nous l'avons souligné, à concentrations pondérales égales, l'acide *p.* aminobenzoïque et la novocaïne donnent à peu près la même intensité de coloration. Il s'ensuit une diminution apparente du titre qui, en réalité, correspond à peu près à la moitié de l'altération.

2° La précision obtenue est comparable à celle que nous avons dans le dosage de la novocaïne, c'est-à-dire environ 4 %.

3° Nous avons mesuré la solubilité de l'acide *p.* aminobenzoïque dans l'eau. Pour cela, nous avons dissous un excès de cet acide dans l'eau bidistillée en nous aidant d'un bain-marie tiède. Par refroidissement, la solution a laissé déposer de très longues aiguilles. Le dosage colorimétrique effectué sur la solution saturée nous a donné une concentration en acide *p.* aminobenzoïque de 2,5 g pour 1.000 cm³ d'eau à 15° *. La préparation des solutions-témoins à 1/20.000 ou de concentration plus faible sera donc simple. Cependant, la dissolution est longue à froid et il sera préférable de chauffer légèrement au bain-marie. Ces solutions-témoins, quoique plus stables que celles de novocaïne, doivent être de préparation récente.

4° Cette réaction est encore extrêmement sensible; on peut également déceler l'acide *p.* aminobenzoïque à la concentration de 1/1.500.000.

5° Comme pour la novocaïne, le bisulfite de sodium diminue notablement l'intensité de la coloration.

Lorsque l'acide *p.* aminobenzoïque à doser est en solution aqueuse saturée d'éther, comme c'est le cas après son extraction, il faut, en plus, formuler les remarques suivantes :

6° La présence d'éther augmente considérablement la coloration et cet accroissement est proportionnel à la quantité d'éther (environ 100 % lorsque la solution est saturée d'éther). Aussi, comme les solutions extractives sont des solutions aqueuses saturées d'éther, est-on obligé d'utiliser comme témoin des solutions d'acide *p.* aminobenzoïque dans l'eau distillée saturée d'éther. Le dosage garde alors toute sa précision. (La même remarque peut être faite avec le benzène, le chloroforme et l'alcool isopropylique, faits dont nous avons

* ŒCHSNER DE CONINCK (16) donne la solubilité de l'acide *p.* aminobenzoïque dans l'eau égale à 3,4 pour 1000 à 12°8.

tenu compte de façon identique lors de la détermination du coefficient de partage entre l'eau et ces divers solvants.)

7° Ces solutions-témoins dans l'eau distillée saturée d'éther sont de plus mauvaise conservation que les solutions dans l'eau pure.

8° En présence d'éther, le développement de la coloration a lieu également en deux minutes.

9° La coloration étant augmentée d'environ 100 %, la concentration optimum d'observation colorimétrique est ici de 1/40.000 à 1/50.000.

10° La sensibilité de la réaction est accrue : on peut déceler l'acide *p.* aminobenzoïque à la concentration de 1/5.000.000

11° L'acide formique utilisé pour obtenir le *pH* 3,5 a été, comme nous l'avons signalé, partiellement entraîné par l'éther, et, lors de l'agitation de cet éther avec de la soude diluée, il est passé en solution aqueuse à l'état de formiate de sodium. Ce composé n'a aucune influence sur le dosage.

CHAPITRE VII

CONTROLE EXPÉRIMENTAL DE LA MÉTHODE ADOPTÉE

Voici quelques résultats obtenus avec les techniques que nous venons d'exposer :

I. Novocaïne :

1° EXTRACTION A L'AMPOULE A DÉCANTATION : Sur 50 cm³ de solution aqueuse de novocaïne alcalinisée au borate de sodium à saturation. Dosage colorimétrique et dosage alcalimétrique pour les concentrations de 1/100 et 1/1.000.

TABLEAU VII

Concentration de la solution	Quantité de novocaïne mise en expérience (en mg)	Quantité retrouvée	% retrouvé	Erreur relative
1/100	500	497,5	99,5 %	— 0,5 %
1/1000	50	50,6	101,2 %	+ 1,2 %
1/10.000	5	4,92	98,4 %	— 1,6 %
1/100.000	0,5	0,477	95,4 %	— 4,6 %
1/100.000	0,5	0,476	95,2 %	— 4,8 %

2° EXTRACTION A L'APPAREIL A EXTRACTION CONTINUE : Sur 50 cm³ de solution aqueuse de novocaïne alcalinisée au borate de sodium à saturation. Durée de l'extraction : une heure et demie. Dosage colorimétrique.

TABLEAU VIII

Concentration de la solution	Quantité de novocaïne mise en expérience (en mg)	Quantité retrouvée	% retrouvé	Erreur relative
1/100	500	504	100,8 %	+ 0,8 %
1/1000	50	48,4	96,8 %	— 3,2 %
1/1000	50	50,6	101,2 %	+ 1,2 %
1/10.000	5	4,91	98,2 %	— 1,8 %
1/10.000	5	4,88	97,6 %	— 2,4 %
1/100.000	0,5	0,37	74 %	— 26 %
1/100.000	0,5	0,357	71,4 %	— 28,6 %

Conclusions :

a) Dans le cas le plus général, pour les concentrations supérieures à 1/10.000, c'est-à-dire à partir d'une quantité de novocaïne à extraire de l'ordre de quelques milligrammes, l'ampoule à décantation et l'appareil à extraction continue donnent de très bons résultats, comme le font prévoir les calculs théoriques; les erreurs relatives observées en fin d'expérience ne dépassant pas l'erreur faite sur le dosage.

b) Lorsqu'il s'agit de fractions de milligramme de novocaïne (ce qui est rare en pratique), on ne peut éviter, si l'on emploie l'appareil, des pertes relativement importantes malgré tous les soins apportés à la manipulation. Les résultats avec l'ampoule, quoique inférieurs à ceux obtenus avec de plus fortes concentrations, restent bons.

REMARQUES. — F. et J. GIRAULT (4) emploient la méthode d'extraction à l'éther. Ils ne pratiquent que deux agitations avec un volume d'éther relativement considérable (voir p. 18). Sur deux essais, leurs erreurs ont été les suivantes :

— 0,74 % et — 1,85 %

SCHOU et ABILDGAARD (7) dans une seule expérience où ils dosent en même temps par alcalimétrie la novocaïne et la diéthylamino-éthanol extraits par le mélange chloroforme-alcool isopropylique de 5 cm³ de solution 0,1 molaire en ce qui concerne la novocaïne et 0,02 molaire en ce qui concerne le diéthylaminoéthanol, enregistrent une erreur de 1 %.

II. Acide *p.* aminobenzoïque :

1° EXTRACTION A L'AMPOULE A DÉCANTATION : Sur 50 cm³ de solution aqueuse amenée à un pH voisin de 3,5 à l'aide de l'acide formique au 1/10, en présence d'un papier au méthylorange. Sept extractions avec 25 cm³ d'éther. Dosage colorimétrique.

TABLEAU IX

Concentration de la solution	Acide <i>p.</i> aminobenzoïque mis en expérience (en mg)	Quantité retrouvée	% retrouvé	Erreur relative
1/100	500	505	101 %	+ 1 %
1/1000	50	48,5	97 %	— 3 %
1/10.000	5	4,69	93,8 %	— 6,2 %
1/100.000	0,5	0,21	42 %	— 58 %
1/100.000	0,5	0,235	47 %	— 53 %

2° EXTRACTION A L'APPAREIL A EXTRACTION CONTINUE : Sur 50 cm³ de solution aqueuse amenée à un pH voisin de 3,5 à l'aide de l'acide formique au 1/10 en présence d'un papier méthylorange. Durée de l'extraction : une heure et demie. Dosage colorimétrique.

TABLEAU X

Concentration de la solution	Acide <i>p.</i> aminobenzoïque mis en expérience (en mg)	Quantité retrouvée	% retrouvé	Erreur relative
1/100	500	498,5	99,7 %	— 0,3 %
1/1000	50	50,1	100,2 %	— 0,2 %
1/1000	50	49,4	98,8 %	— 1,2 %
1/10.000	5	4,88	97,6 %	— 2,4 %
1/10.000	5	5,15	103 %	+ 3 %
1/100.000	0,5	0,27	54 %	— 46 %
1/100.000	0,5	0,29	58 %	— 42 %

Conclusions :

a) L'ampoule à décantation ne donne de résultats corrects pour l'extraction de l'acide *p.* aminobenzoïque qu'en opérant sur des solutions au 1/100 et au 1/1.000. A plus faible concentration, il se produit des pertes que nous n'avons pu éviter. Or dans la pratique, les concentrations d'acide *p.* aminobenzoïque que l'on peut avoir à doser sont généralement faibles.

b) L'appareil à extraction continue donne de très bons résultats dès que l'on opère avec quelques milligrammes d'acide *p.* aminobenzoïque; c'est donc lui qu'il faudra nécessairement employer. Cependant pour des fractions de milligramme, des pertes inévitables atteignant presque 50 % ont lieu.

REMARQUE. — SCHOU et ABILDGAARD (7) sont, à notre connaissance, les seuls auteurs qui aient dosé l'acide *p.* aminobenzoïque après extraction de ses solutions aqueuses. Ils nous indiquent que, ayant mis en expérience une solution 0,1 molaire de novocaïne et 0,02 molaire d'acide *p.* aminobenzoïque et de diéthylaminoéthanol, le dosage de l'acide a exigé 0,985 cm³ de soude N/10 au lieu de 1 cm³ théorique. Ils enregistrent donc une erreur de - 1,5 % sur une quantité de 13,7 mg d'acide *p.* aminobenzoïque (P. M. = 137) contenue dans 5 cm³ de solution : concentration 1/365. Nos résultats sont comparables avec l'éther.

Ces auteurs ne nous indiquent pas la précision obtenue pour des concentrations plus faibles. Cependant, au cours de leur travail, ils ont utilisé des quantités de soude aussi petites que 0,025 cm³ sur 5 cm³ de liquide analysé et 0,035 cm³ sur 10 cm³ de liquide analysé qui correspondaient, dans le premier cas, à 0,34 mg d'acide *p.* aminobenzoïque, et, dans le second cas, à une concentration de 1/20.855 de cet acide.

CHAPITRE VIII

SÉPARATION CHIMIQUE DE LA NOVACAÏNE ET DE L'ACIDE *p.* AMINOBENZOÏQUE

La séparation physique de la novocaïne et de l'acide *p.* aminobenzoïque que nous venons d'étudier en détail, est une méthode précise mais longue et assez délicate. Aussi avons-nous cherché à mettre au point un procédé de séparation chimique qui soit beaucoup plus simple et permette de se rendre compte plus facilement de l'altération des solutions de novocaïne. Nous avons à envisager deux méthodes : soit précipiter entièrement la novocaïne de manière à ce qu'il ne reste plus en solution que l'acide *p.* aminobenzoïque, soit précipiter quantitativement ce dernier corps.

Nous avons pu mettre au point deux techniques se basant sur ces deux principes opposés : la première atteignant le but de simplicité que nous nous étions assigné, la seconde assés complexe mais que nous croyons devoir exposer également.

I. Précipitation de la novocaïne :

Principe : Nous utilisons la réaction qui a permis à VALLETTE (21) de doser la novocaïne, c'est-à-dire sa précipitation à l'état de silico-tungstate (voir p. 48). Il est inutile dans notre cas de se placer comme l'a fait cet auteur, en milieu chlorhydrique $N/2$, mais le repos de vingt-quatre heures est indispensable. On obtient un liquide qui ne donne pratiquement plus les réactions de la novocaïne et qui contient tout l'acide *p.* aminobenzoïque.

Technique : 10 cm³ de la solution de novocaïne à analyser (nous avons utilisé les solutions au 1/100 contenant des quantités variables d'acide *p.* aminobenzoïque) sont additionnés, en agitant continuellement, d'un volume d'une solution d'acide silico-tungstique en excès (nous ajoutions 5 cm³ de solution à 15 %). Après vingt-quatre heures de repos, on prélève à la pipette 5 cm³ du liquide surnageant sur lesquels on appliquera la méthode de recherche et de dosage colorimétrique de l'acide *p.* aminobenzoïque (voir p. 57). L'acide silico-tungstique en excès ne gêne pas ce dosage.

Dans ces conditions, une solution pure de novocaïne à 1/100 ne donne plus, après précipitation, qu'une réaction très faible à peu près égale à celle que donne une solution de novocaïne à 1/1.000.000 *. Rappelons que le diéthylamino-éthanol soumis à la diazotation ne donne aucune coloration. La recherche et le dosage de l'acide *p.* aminobenzoïque seront donc très sensibles.

Voici quelques résultats :

a) Analyse de 10 cm³ de novocaïne à 1/100 contenant 1 mg d'acide *p.* aminobenzoïque (ce qui correspond à peu près à une altération de 2 %) :

Quantité retrouvée : 1,020 mg. Erreur relative : + 2 %.

b) Analyse de 10 cm³ de novocaïne à 1/100 contenant 1/10 mg d'acide *p.* aminobenzoïque (altération de 0,2 %) :

Quantité retrouvée : 0,094 mg. Erreur relative : — 6 %.

c) Analyse de 10 cm³ de novocaïne à 1/100 contenant 1/100 mg d'acide *p.* aminobenzoïque (altération de 0,02 %) : Il est encore possible d'apprécier à coup sûr la présence de l'acide *p.* aminobenzoïque si l'on a soin de traiter de manière

* Nous avons essayé d'étendre cette technique à d'autres anesthésiques locaux voisins de la novocaïne en particulier la larocaïne, la tutocaïne et la butelline. Mais les solutions pures à 1/100 de ces trois produits donnent encore, après précipitation par l'acide silico-tungstique, une réaction colorée très forte pour les deux premiers, faible mais cependant gênante pour le dernier. On ne peut donc leur appliquer cette méthode.

identique une solution-témoin de novocaïne pure à 1/100 et de comparer les deux colorations obtenues.

Cette méthode simple et sensible n'est malheureusement applicable que dans le cas de solutions pures de novocaïne, ou du moins, de solutions ne contenant pas de substances susceptibles d'être diazotées ou de gêner la diazotation. C'est pourquoi nous avons pensé qu'il serait intéressant de mettre également au point une méthode de précipitation quantitative de l'acide *p.* aminobenzoïque.

II. Précipitation quantitative de l'acide *p.* aminobenzoïque :

Principe : Le réactif de Patein (nitrate mercurique) donne avec les solutions d'acide *p.* aminobenzoïque un volumineux précipité blanc de *p.* aminobenzoate de mercure. Ce précipité se développe peu à peu, prend un aspect floconneux et se dépose au fond du tube au bout de quelques heures. La réaction est encore sensible à la concentration de 1/100.000. A ces concentrations supérieures ou égales à 1/10.000, la précipitation est pratiquement quantitative, ainsi que le prouvent nos résultats; et cette réaction est très certainement susceptible de fournir, avec des quantités suffisantes, une méthode pondérale de dosage de l'acide *p.* aminobenzoïque. La mise au point de cette dernière serait sortie du cadre de notre travail. Les quantités d'acide résultant de l'altération de la novocaïne étant généralement faibles et leur dosage n'exigeant pas une très grande précision, nous avons utilisé la méthode colorimétrique.

Le précipité est filtré, lavé, mis en suspension dans l'eau et dissous par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Le dosage colorimétrique est effectué sur la solution obtenue.

Malheureusement, le mercure a une action considérable sur l'intensité de la coloration, et cette influence est proportionnelle à la quantité de ce cation. Pour tourner cette difficulté, il fallait soit éliminer le mercure, soit en introduire

une quantité égale dans le témoin. C'est cette dernière alternative plus simple, que nous avons choisie.

Nous avons tout d'abord déterminé la quantité de mercure qui, dans cette réaction de précipitation, s'unit à l'acide *p.* aminobenzoïque. Pour cela, nous avons formé une assez grande quantité de précipité, nous l'avons lavé abondamment et recueilli sur un filtre. Puis nous l'avons étalé dans une capsule plate et séché à l'étuve à 80° jusqu'à poids constant. Le produit obtenu se présente sous forme d'une poudre de couleur jaune. Nous avons dosé le mercure par la méthode cyano-argentimétrique de Deniges sur une prise d'essai de 20 cg que nous avons dissouté dans l'acide chlorhydrique dilué en chauffant modérément. Nous avons trouvé 11,48 cg de mercure soit 57,4 % du précipité desséché. D'autre part, un dosage colorimétrique sur 20 cg de ce même produit nous a permis de conclure à la présence de 7,9 cg d'acide *p.* aminobenzoïque soit 39,5 % du précipité desséché.

A 7,9 cg de cet acide se sont donc unis 11,48 cg de mercure. A une molécule d'acide, soit 137 g, s'uniront 199,1 g de mercure. Nous pouvons donc conclure que sur une molécule d'acide *p.* aminobenzoïque se fixe un atome de mercure (il y a probablement formation d'un sel basique).

Préparation de la solution-témoin : Le chlorure mercurique ne précipitant pas les solutions d'acide *p.* aminobenzoïque, nous avons introduit le mercure sous cette forme dans les solutions-témoins. A 137 g d'acide *p.* aminobenzoïque, il nous fallait ajouter un atome de mercure soit 271,5 g de chlorure mercurique. Nous préparons des solutions étalons d'acide *p.* aminobenzoïque au 1/10.000 en dissolvant 50 mg dans 500 cm³ d'eau distillée. Pour avoir la même concentration en mercure que la solution obtenue par dissolution du précipité de *p.* aminobenzoate de mercure, il fallait donc que la solution témoin contienne :

$$\frac{271,5 \times 50}{137} = 99 \text{ mg Cl}_2 \text{ Hg}$$

ce que l'on peut faire aisément en ajoutant dans le ballon jaugé, après dissolution des 50 mg d'acide, 10 cm³ d'une solution de chlorure mercurique à 9,9 g par litre et en complétant à 500 cm³.

Technique : Dans un bécher, on met 10 cm³ d'une solution d'acide *p.* aminobenzoïque, à 1/10.000 par exemple, plus 1 cm³ de réactif de Patein. On attend que le liquide surnageant soit parfaitement clair (il vaut mieux laisser reposer une nuit). On filtre sur filtre sans plis, à filtration normale, de 7 cm de diamètre, disposé sur un entonnoir à longue douille. On lave soigneusement, à quatre ou cinq reprises, le précipité et le filtre de manière à éliminer l'excès de réactif. On déplie le filtre sur les parois d'un entonnoir de dimensions appropriées, on entraîne très soigneusement le précipité avec un jet de pissette très fin et on recueille dans un petit ballon jaugé de 50 cm³ (en rapport avec le volume du précipité). On dissout celui-ci avec une à deux gouttes d'acide chlorhydrique pur; on complète; on agite et on dose colorimétriquement par comparaison avec le témoin contenant la même proportion de mercure, précédemment préparé.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

a) avec 10 cm³ de solution au 1/1.000 soit 1 mg d'acide *p.* aminobenzoïque :

<u>Quantités dosées</u>	<u>Erreur relative</u>
0,98 mg	— 2 %
1 mg	0 %
1,025 mg	+ 2,5 %

b) avec une solution au 1/20.000 soit 0,5 mg d'acide :
0,455 mg — 9 %

c) avec une solution au 1/100.000 soit 0,1 mg d'acide :
0,04 mg — 60 %

Cette méthode donne des résultats comparables à ceux obtenus après extraction à éther.

Remarque : En milieu acide minéral, la précipitation ne se fait pas, de même qu'en présence d'une trop forte quantité de chlorure de sodium.

Mais en présence de novocaïne, la méthode n'est plus directement applicable. La novocaïne à 1/100 ne donne pas immédiatement de précipité par le réactif de Patein mais seulement au bout d'une douzaine d'heures, ce qui laisserait le temps de doser l'acide *p.* aminobenzoïque sans être gêné. Mais le précipité de *p.* aminobenzoate de mercure va adsorber des quantités importantes de novocaïne et les lavages, aussi minutieux et répétés soient-ils, ne pourront le purifier. Pour éviter cet inconvénient, nous avons dû précipiter préalablement la novocaïne à l'état de silico-tungstate.

Cette précipitation de la novocaïne libère de l'acide chlorhydrique qui apporte au milieu, de même que l'excès d'acide silico-tungstique, une acidité minérale trop forte. Il convient de neutraliser le liquide surnageant prélevé en présence de phénolphtaléine et de revenir en milieu légèrement acide avec une goutte d'acide nitrique dilué (pour éviter la précipitation de l'oxyde de mercure). Dans ces conditions, la précipitation du *p.* aminobenzoate de mercure a lieu malgré la présence d'un peu de chlorure de sodium.

Voici comment nous avons opéré :

Dans un tube à centrifuger, 10 cm³ de solution de novocaïne à 1/100 contenant 1 mg d'acide *p.* aminobenzoïque sont additionnés de 5 cm³ d'acide silico-tungstique à 15/100. Repos : 24 heures. Puis centrifugation de manière à bien tasser le précipité au fond du tube. On prélève à l'aide d'une pipette 10 cm³ de liquide surnageant; on les met dans un petit bécher, on neutralise avec la soude N/10 en présence de phénolphtaléine, puis on décolore avec l'acide nitrique à 1/1.000. On ajoute 2 cm³ de réactif de Patein. On attend quelques heures et on détermine comme précédemment.

Voici les résultats obtenus lors de six essais :

0,91 mg 1 mg 1,04 mg 0,89 mg 1,04 mg 1,07 mg

Erreur relative maximum : — 11 %.

Cette méthode est donc moins précise que la méthode d'extraction à l'éther, et de plus, elle est assez compliquée. Nous l'avons cependant exposée, principalement pour mettre en relief la propriété intéressante de l'acide *p.* aminobenzoïque de précipiter quantitativement par le nitrate mercurique.

Remarque: L'acide *p.* aminobenzoïque précipite également par l'acétate neutre et le sous-acétate de plomb, mais le sel de plomb obtenu est bien plus soluble que le sel de mercure.



DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DE L'URINE
DES ANESTHÉSIÉS A LA NOVOCAÏNE

CHAPITRE I

ÉLIMINATION URINAIRE DE LA NOVACAÏNE

I. Bibliographie :

Les premières expériences mentionnées sont celles de HATCHER et EGGLESTON (51) en 1916, sur un chat. Ces auteurs ont employé une méthode de recherche biologique : ils injectent à un chat 1 g de novocaïne par voie intraveineuse en deux ou trois heures. Au bout de ce temps, l'animal est sacrifié, sa vessie enlevée et l'urine recueillie. La totalité de cette urine est injectée à un autre chat, ce qui ne détermine aucun symptôme d'intoxication. Or « si plus de 3 % de la quantité totale de novocaïne injectée au premier animal avait été excrétée en nature par les urines, il se serait produit de sérieux symptômes d'intoxication au cours de cette expérience ». Les auteurs en déduisent : « Moins de 3 % (si toutefois il y en a) d'une grosse dose intraveineuse sont excrétés en nature dans l'urine du chat dans une période de deux à trois heures ». Et ils concluent : « Peu ou pas de novocaïne est éliminée en nature par les urines du chat ».

En 1918, ACHARD (52) recherche la novocaïne directement dans l'urine des opérés à l'aide du réactif de Tanret qui donne un précipité avec ce composé. Pour ce faire, il additionne 3 cm³ d'urine avec 2 cm³ de réactif. Il s'assure, avant l'opération, que l'urine étudiée ne donne pas de précipité dans ces conditions.

Ses expériences ont porté sur quinze rachianesthésies obtenues avec 7 à 8 cg de novocaïne et trois anesthésies locales obtenues avec 2 à 3 cg de cet anesthésique. Il dit avoir

observé des précipités intenses, et ses conclusions sont les suivantes :

« 1^o Chez les individus normaux, dans le plus grand nombre des cas (11 sur 14), l'élimination de la novocaïne, très rapide entre la deuxième et troisième heure, est achevée pour la sixième heure. Cette élimination se fait entièrement par les reins.

2^o Nous ferons des réserves sur l'élimination chez les individus à fonctionnement rénal altéré : il semble que ces individus retiennent l'alcaloïde. Son élimination a été retardée dans les cas observés (durant plusieurs jours) ».

Il n'est pas fait mention de possibilité de décomposition de la novocaïne. Cet auteur paraît admettre que la novocaïne s'élimine entièrement en nature par la voie rénale.

En 1920, THIEULIN (1) recherche dans les urines du lapin la novocaïne et aussi ses produits de décomposition : il extrait à l'éther les trois composés, ainsi que nous l'avons déjà dit (voir p. 18), et il les fait repasser en solution aqueuse, puis il les caractérise de la manière suivante :

Les deux solutions extractives sont soumises à la diazotation et copulation avec le β naphthol en milieu sodique, ce qui donne, en présence de novocaïne d'une part, ou d'acide *p.* aminobenzoïque d'autre part, une coloration rouge.

La solution extractive provenant de l'épuisement de l'urine en milieu alcalin est additionnée de propanone et de nitroprussiate de sodium. Dans ces conditions, le diéthylaminoéthanol donne une coloration rouge.

Les deux expériences que mentionne l'auteur ont porté sur deux lapins de 2,400 kg et 2,350 kg ayant reçu respectivement 0,80 g et 0,40 g de novocaïne en injection intramusculaire dans la cuisse. Les urines ont été recueillies 8, 24 et 48 heures après l'injection. Les résultats obtenus permettent à l'auteur de conclure : « Dans les 24 heures qui suivent l'injection intramusculaire de novocaïne, on peut déceler dans les urines la présence de novocaïne-base et de ses composants : acide *p.* aminobenzoïque et diéthylaminoéthanol ». Les

recherches sont négatives sur les urines recueillies 48 heures après l'injection.

En 1934, GIBB et DEHN (53) appliquent directement sur l'urine des anesthésiés la technique de RIEGEL et WILLIAMS (44) et ils comparent la coloration obtenue à celle de l'urine non traitée. Comme ils le font remarquer, ils mettent en évidence à la fois la novocaïne et l'acide *p.* aminobenzoïque. Sur 64 urines d'anesthésiés examinées, 59 ont donné une réaction positive dans la première heure, trois au bout de la deuxième heure et une au bout de la troisième heure.

En 1936, BOGETTI (54) expérimentant également sur le lapin, trouve que la novocaïne apparaît dans les urines 1/4 d'heure après l'injection; son taux reste constant pendant environ 3/4 d'heure et diminue ensuite. *

En 1938, BULLOCK et MACDONALD (43) étudiant l'élimination de la novocaïne injectée au chat par voie intrarachidienne, emploient la méthode suivante : ils diluent 0,2 cm³ d'urine au 1/10 et, sans extraction, ils pratiquent directement sur l'urine diluée, une diazotation suivie d'une copulation au gaïacolsulfonate de potassium en milieu carbonate de sodium fort.

Après injection intrarachidienne de 50 mg de novocaïne à un chat de 2,600 kg, ils ont ainsi retrouvé dans les urines 1,7 mg de cet anesthésique, soit environ 3 % de la quantité injectée.

Ces six séries d'expériences sont les seules qui, à notre connaissance, aient été entreprises sur l'élimination urinaire de la novocaïne. Nous avons pensé qu'il serait utile d'entreprendre de nouvelles recherches dans ce sens car :

* Les circonstances actuelles ne nous ont malheureusement pas permis de nous procurer l'article original et nous ignorons quelles sont les doses que cet auteur a utilisées au cours de ses expériences. Il semble cependant qu'elles aient été également très fortes si l'on en juge par le titre même de la publication : « Élimination de la novocaïne dans quelques intoxications expérimentales. »

1° Les résultats que nous venons d'exposer ne sont pas très concordants entre eux et, de plus, ceux obtenus par THIEULIN (1) et par ACHARD (52) sont en contradiction avec les conclusions auxquelles sont arrivés EGGLESTON et HATCHER (55) en 1919, MACDONALD et ISRAELS (56) en 1932, et DUNLOP (6) en 1935.

Les premiers de ces auteurs, grâce à l'expérimentation physiologique, arrivent à la conclusion que « la novocaïne est détruite chez le chat à la vitesse d'au moins une dose mortelle toutes les vingt minutes.

MACDONALD et ISRAELS (56) indiquent que le chat détruit complètement en une heure des doses de novocaïne assez fortes pour produire la paralysie respiratoire.

Enfin, le dernier auteur, à l'aide d'une méthode de dosage chimique de la novocaïne dans le sang, trouve que, lorsque l'on injecte par voie intraveineuse à un chien une dose de 3 à 10 mg de cet anesthésique par kg d'animal, il disparaît entièrement du sang circulant au bout de 45 minutes. Avec une dose de 12 à 15 mg par kg, des traces de novocaïne persistent un peu plus de 45 minutes. Et ce n'est que lorsque des quantités aussi fortes que 15 à 20 mg par kg sont injectées d'une manière répétée (toutes les heures) à un chien que la novocaïne n'est pas entièrement détruite et que l'on peut constater une légère accumulation de celle-ci dans le sang circulant.

Ces trois groupes d'auteurs sont donc d'accord sur le fait que la novocaïne, même après forte dose, est très rapidement décomposée dans le corps de l'animal, et par suite en désaccord complet avec ACHARD (52) et aussi avec THIEULIN (1) qui, au cours de la deuxième expérience mentionnée, ayant obtenu une réaction positive de la novocaïne dans l'urine recueillie huit heures après l'injection, retrouve encore des traces dans l'urine vingt quatre heures après. Il est vrai que tous ces auteurs expérimentaient sur des animaux très divers.

2° La question du choix de l'animal semble donc jouer un rôle important et nous avons pensé qu'il était logique, le

composé étudié nous intéressant en raison de son emploi en thérapeutique humaine, de faire de nouvelles investigations sur l'homme.

3° D'autre part, tous les auteurs précités, à l'exception d'ACHARD (52), injectent aux animaux mis en expérience des quantités considérables d'anesthésique relativement au poids de l'animal, quantités qui s'écartent totalement des doses couramment utilisées en médecine humaine; ce mode opératoire, s'il facilite les recherches, risque de provoquer des phénomènes différents de ceux qui se produisent chez l'homme normalement anesthésié.

C'est pourquoi nous nous proposons d'étudier, avec une méthode sensible, l'élimination urinaire de la novocaïne chez l'homme, dans les conditions habituelles de la thérapeutique.

II. Méthode de recherche de la novocaïne dans l'urine :

Principe : Nous avons appliqué à l'urine la technique d'extraction à l'éther étudiée en détail dans la première partie de ce travail. La littérature nous ayant fait prévoir que la novocaïne s'élimine en très faible quantité par la voie rénale, nous ne pouvions songer à utiliser l'appareil à extraction continue qui ne convient pas pour l'épuisement des solutions très diluées *, en dépit de l'énorme avantage qu'il possède de ne donner, en milieu alcalin et à fortiori en milieu acide, aucune ou tout au moins qu'une faible émulsion peu gênante avec la plupart des urines**. Nous avons donc utilisé

* Malgré les résultats antérieurement obtenus sur les solutions de novocaïne dans l'eau distillée (voir p. 64) nous avons tenu à refaire ces expériences sur les solutions de novocaïne à 1/100.000 dans l'urine. Nous avons obtenu des résultats comparables. Sur trois essais, les erreurs ont été les suivantes :

— 28,6 % — 23,1 % — 28,7 %

** Cet avantage doit cependant être retenu pour le cas de l'extraction de médicaments qui s'éliminent en proportion importante par la voie rénale.

l'ampoule à décantation. Avec cette dernière, la manipulation est délicate et des émulsions très gênantes, difficiles à éviter, occasionnent des pertes sensibles. C'est ainsi qu'ayant voulu extraire de 50 cm³ d'urine 0,5 mg de novocaïne (concentration 1/100.000) que nous y avons ajouté, nous n'en avons retrouvé que 83 %. Aussi, à l'exemple de nombreux toxicologues, avons-nous essayé de déféquer l'urine avant de l'agiter avec l'éther. Après plusieurs essais, notre choix s'est porté sur le réactif de Courtonne (acétate neutre de plomb) qui ne précipite pas la novocaïne.

Technique : Dans un ballon de 50-55 cm³ on met 50 cm³ d'urine et on complète à 55 avec le réactif de Courtonne. On agite, on filtre, on recueille 50 cm³ de filtrat dans un autre ballon de 50-55 cm³; on complète à 55 cm³ avec une solution saturée de sulfate de sodium; on agite; on filtre à nouveau; on recueille 50 cm³ que l'on introduit dans l'ampoule à décantation. On ajoute quelques cristaux de borate de sodium et on épuise à trois reprises avec 20 cm³ d'éther. Aucune émulsion ne se produit. Les éthers, réunis dans la même ampoule, sont agités deux fois avec 4,5 cm³ environ d'eau chlorhydrique au 1/100. Les phases aqueuses sont recueillies dans un petit ballon jaugé de 10 cm³. On complète au trait de jauge avec l'eau distillée; on prélève 5 cm³ et on procède au dosage colorimétrique. On fait le calcul sans oublier de tenir compte des dilutions faites au cours de la défécation.

Résultats :

TABLEAU XI

Concentration de la novocaïne dans l'urine	% retrouvé	Erreur relative
1/1000	94,9 %	— 5,1 %
1/10.000	93,3 %	— 6,7 %
1/100.000	91,2 %	— 8,8 %
1/100.000	90,1 %	— 9,9 %

Si l'on compare ces résultats à ceux obtenus avec les solutions de novocaïne dans l'eau distillée et où la défécation n'intervient pas (voir p. 63), on s'aperçoit que de la défécation a fait perdre un peu de produit. L'erreur ne dépasse pas cependant 10 % et les résultats pour la concentration de 1/100.000 sont encore supérieurs à ceux que nous avons obtenus sans défécation, et la manipulation est beaucoup plus facile et plus rapide.

Limite de sensibilité :

Les expériences ci-dessus ont été faites sur des solutions de novocaïne dans de l'urine d'homme bien portant. Avec de telles urines, les essais à blanc nous ont toujours donné une coloration dont l'intensité variait légèrement avec l'urine expérimentée, mais toujours très faible, voisine de la limite de sensibilité de la réaction.

Au contraire, avec les urines d'opérés qui sont très colorées et fortement chargées, les essais sont toujours fortement positifs, que le sujet ait reçu ou non de la novocaïne, et nous avons dû renoncer à y rechercher efficacement cet anesthésique. Nous avons donc fait nos expériences sur l'homme non opéré. Dans ces conditions, quelle est la limite de sensibilité de la méthode? Des nombreux essais que nous avons faits, il résulte que l'on peut infailliblement déceler la novocaïne dans une urine la contenant à la concentration de 1/250.000 (1/50 mg dans 50 cm³). Pour plus de sûreté, nous prélevions l'urine du sujet mis en expérience immédiatement avant l'injection. Nous faisons sur cette urine un essai à blanc auquel nous pouvions comparer les colorations obtenues avec les urines très peu différentes recueillies ultérieurement.

III. Expériences et résultats :

1^o INJECTION INTRA-MUSCULAIRE :

Comme nous l'avons signalé, il nous a été impossible de rechercher la novocaïne dans l'urine des opérés. Il nous fallait

une anesthésie non suivie d'intervention chirurgicale qui modifie la constitution de l'urine. Aussi, est-ce sur nous-même que nous avons fait nos expériences. Ce procédé a en outre l'avantage d'offrir toute garantie quant au prélèvement de l'urine et son analyse immédiate.

Nous nous sommes injecté une première fois 10 cm³ de solution de novocaïne à 2/100 soit 20 cg, par voie intramusculaire. Nous avons recueilli les urines au bout de 6, 12 et 24 heures après l'injection. La recherche de la novocaïne, effectuée comme il vient d'être dit, a été négative dans les trois cas.

Nous avons alors pensé d'une part à augmenter la dose d'anesthésique injectée, d'autre part, nous appuyant sur les travaux de EGGLESTON et HATCHER (55), MACDONALD et ISRAELS (56) et DUNLOP (6) qui indiquent que la novocaïne disparaît très rapidement du sang circulant, à recueillir l'urine au bout d'un temps plus court.

Nous nous sommes donc, dans une seconde expérience, injecté par voie intramusculaire 20 cm³ d'une solution de novocaïne à 2/100, soit 40 cg, et nous avons prélevé nos urines au bout d'une heure (volume 160 cm³). Dans ce cas également, la recherche de la novocaïne a été rigoureusement négative. Nous avons continué à la rechercher d'heure en heure, pendant six heures, sans plus de succès.

En résumé, nous injectant des doses normales de novocaïne par voie intramusculaire, il nous a été impossible de trouver trace de cet anesthésique local dans nos urines malgré la sensibilité de la méthode employée. Celle-ci permet, comme nous venons de le voir, de déceler au moins 1/50 mg de novocaïne dans 50 cm³ d'urine. Au cours de la seconde expérience, le volume d'urine recueilli au bout de la première heure a été de 160 cm³. Si donc cette urine avait contenu 16/250 mg d'anesthésique, nous l'aurions retrouvé à coup sûr. En d'autres termes, nous avons éliminé, dans la première heure suivant l'injection, moins de 1/6.250 de la quantité de novocaïne administrée et ceci en ingérant avant l'expé-

rience une quantité de liquide assez grande pour recueillir dès la première heure un volume d'urine suffisant; autrement dit, en favorisant encore l'élimination. Remarquons en outre que nous nous sommes injecté des doses qui, bien que couramment utilisées en chirurgie, sont beaucoup plus fortes que la dose maxima de 10 cg fixée par le Codex.

Expériences complémentaires sur le lapin :

Les résultats que nous venons d'exposer étant en contradiction avec ceux de THIEULIN (I), nous avons tenu à reprendre les expériences de cet auteur pour vérifier si seules les conditions opératoires étaient responsables de la divergence de nos conclusions.

Nous avons utilisé comme animal d'expérience un lapin * de 2,500 kg placé dans une cage à métabolisme dont le fond incliné et percé d'un orifice permettait de collecter les urines dans un petit ballon. En rinçant ensuite soigneusement avec de l'eau distillée ce fond mobile de la cage, nous avons pu recueillir d'une manière suffisamment quantitative les urines de vingt-quatre heures. Celles-ci, portées à un volume connu, étaient divisées en deux parties dans lesquelles nous avons recherché d'une part la novocaïne, toujours selon la même technique, d'autre part, l'acide *p.* aminobenzoïque (la méthode et les résultats de cette dernière recherche seront exposés au chapitre suivant).

A notre première expérience, nous avons injecté en une seule fois au lapin 5 cm³ d'une solution à 4/100 de novocaïne soit 20 cg, par voie intramusculaire**. La recherche de la

* Nous remercions vivement le laboratoire de pharmacodynamie de la Faculté de Pharmacie de Montpellier qui nous a obligeamment fourni les animaux et le matériel nécessaire à ces expériences.

** Quelques minutes après, nous avons été obligé de pratiquer une injection de 3 cm³ de solucamphre à 10/100 pour lutter contre les dangereux effets toxiques de cette dose considérable de novocaïne.

novocaïne dans les urines avant l'injection, n'avait donné qu'une réaction très faiblement colorée. Les urines de vingt-quatre heures, recueillies après l'injection, ont donné une coloration rouge très intense. Au bout de quarante-huit heures, nous avons pu déceler encore des traces très nettes d'anesthésique. Après quarante-huit heures, cette recherche a été négative. Nous avons pu évaluer à environ 25 mg la quantité de novocaïne éliminée en nature par les urines sur les 200 mg injectés soit 12,5 %.

Cette expérience confirmait entièrement les résultats obtenus par THIEULIN (1). Nous ne pouvions alors attribuer la divergence de nos résultats qu'aux différences considérables des doses employées relativement au poids du sujet d'expérimentation. Nous avons vérifié cette hypothèse en injectant au même lapin 2 cg de novocaïne, soit 0,8 cg par kg alors que nous nous étions injecté dans la seconde expérience décrite ci-dessus 40 cg soit 0,6 cg par kg environ. Dans ces conditions, nous n'avons pas pu retrouver d'anesthésique dans les urines alors que, bien que la recherche ait été moins précise dans les urines de lapin que dans celles de l'homme, il nous eût été facile de retrouver environ le 1/200 de la quantité injectée.

2° INJECTION INTRAVEINEUSE :

La thérapeutique moderne utilisant la novocaïne en injection intraveineuse chez certains sujets souffrant de polyalgies, dyspnée, etc., il nous a été possible d'étudier l'urine de ces malades, l'injection n'étant pas suivie d'intervention chirurgicale. Nous avons eu ainsi l'occasion de réaliser les quatre expériences suivantes * :

a) Malade atteint d'asthme ayant probablement pour cause un cancer du poumon. Injection intraveineuse de 10 cm³

* Nous exprimons nos plus vifs remerciements à M. le Professeur agrégé Monnier qui nous a obligeamment procuré les urines de malades nécessaires à ces expériences.

de solution de novocaïne à 1/100, le 11 mai 1944. Temps d'injection : deux minutes et demie. Urine recueillie avant et vingt-quatre heures après l'injection (volume : 700 cm³). Recherche de la novocaïne effectuée dans les conditions habituelles.

Résultat négatif.

b) Sujet 42 ans, souffrant de polyarthrite. Injection intraveineuse de 10 cm³ de solution de novocaïne à 1/100, le 22 mai 1944. Urine recueillie avant et une heure après l'injection (volume 75,5 cm³).

Résultat : Traces très nettes correspondant à un peu moins de 0,1 mg de novocaïne dans les 75,5 cm³ d'urine.

c) Vieillard atteint de pseudo-asthme cardiaque. L'injection intraveineuse de 10 cm³ de solution de novocaïne à 1/100 le 3 juin 1944. Urine recueillie avant l'injection puis, quarante minutes (volume 26 cm³) et trois heures après (volume 220 cm³).

Résultats : Quarante minutes après, traces nettes correspondant à un peu moins de 0,1 mg de novocaïne dans les 26 cm³ d'urine.

Trois heures après, recherche négative.

d) sujet atteint de phlébite d'un membre inférieur. Injection intraveineuse de 10 cm³ de solution de novocaïne à 1/100, le 6 juin 1944. (Le sujet avait déjà subi un traitement identique la veille.) Urine recueillie avant l'injection puis une heure après (volume : 37 cm³) et deux heures après (volume : 34 cm³).

Résultats : Une heure après, traces nettes correspondant à environ 0,08 mg de novocaïne dans les 37 cm³ d'urine.

Deux heures après, néant.

DISCUSSION DES RÉSULTATS :

Les résultats obtenus en utilisant la voie intramusculaire sont nets : la novocaïne injectée à l'homme par cette voie aux doses normalement utilisées en thérapeutique est entière-

rement décomposée dans l'organisme et ne s'élimine pas, même partiellement, en nature par la voie rénale.

En ce qui concerne la voie intraveineuse, la méthode très sensible que nous avons utilisée nous a permis de déceler avec certitude des traces de novocaïne dans les urines des sujets ainsi traités, mais ces traces représentent moins de 1/1000 de la quantité injectée. On ne peut en vérité parler d'une élimination.

Nous n'avons pas eu l'occasion d'expérimenter les autres voies également utilisées en thérapeutique : intrarachidienne, intrapéritonéale, etc. Cependant la voie intraveineuse étant la plus directe, nous croyons pouvoir affirmer également que la novocaïne injectée à l'homme par ces autres voies, aux doses usuelles, ne se retrouve pas en nature dans les urines.

Ces résultats sont en désaccord avec ceux de ACHARD (25), de THIEULIN (1), de BOGETTI (54) et de BULLOCK et MACDONALD (43).

ACHARD (52) qui est le seul à avoir expérimenté sur l'homme, se trouve en complète contradiction avec tous les autres auteurs qui admettent une décomposition plus ou moins importante de la novocaïne dans l'organisme animal. Mais il a employé, comme le font justement remarquer BULLOCK et MACDONALD (43), « une méthode grossière utilisant un réactif qui est un précipitant général des alcaloïdes et des protéines et en aucune façon spécifique de la novocaïne », et ceci sur des urines d'opérés profondément modifiées et fortement chargées.

Les autres auteurs ont tous expérimenté sur des animaux de laboratoire : THIEULIN (1) et BOGETTI (54) sur le lapin, BULLOCK et MACDONALD (43) sur le chat.

THIEULIN (1), ainsi que nous l'avons déjà souligné, a utilisé des doses considérablement plus fortes, relativement au poids de l'animal, que celles utilisées couramment en médecine. C'est là le facteur important et c'est pourquoi nous avons entrepris de nouvelles expériences qui nous ont

montré que la novocaïne injectée au lapin par voie intramusculaire, à dose submortelle, s'élimine effectivement en partie non décomposée par les urines, mais que, aux doses par kg habituellement utilisées en thérapeutique humaine, le lapin se comporte comme l'homme et n'élimine pas de novocaïne en nature par la voie rénale.

BULLOCK et MACDONALD (43) ont utilisé des doses moins considérables mais leur méthode de recherche est défec-
tueuse. Ils appliquent directement sur l'urine diluée, sans extraction, la méthode de CHÉRAMY (15) (à peine modifiée) qui, comme nous l'avons montré, décèle aussi bien l'acide *p*. aminobenzoïque que la novocaïne. GIBB et DEHN (53) qui ont également appliqué une réaction de diazotation directement sur l'urine de l'homme anesthésié, ont bien fait remarquer que par cette méthode ils décelaient soit la novocaïne soit l'acide *p*. aminobenzoïque. A la suite de nos expériences, nous pouvons avancer que c'est vraisemblablement ce dernier qui a été mis en évidence par ces deux groupes d'auteurs.

Nous ne pouvons malheureusement commenter les résultats de BOGETTI (55), ne connaissant pas son mode opératoire exact.

Conclusion :

La novocaïne injectée à l'homme aux doses normalement employées en thérapeutique, est entièrement décomposée dans l'organisme et n'est pas éliminée en nature par la voie rénale.

CHAPITRE II

ÉLIMINATION URINAIRE DE L'ACIDE

p. AMINOBenzoïque

(provenant de la décomposition de la novocaïne
dans l'organisme)

I. Bibliographie :

Celle-ci est assez réduite puisque, à notre connaissance elle se limite aux expériences de THIEULIN (1) que nous avons déjà exposées en détail (p. 78). Nous pourrions également y ajouter les travaux de GIBB et DEHN (53) (p. 79).

Comme expérience similaire, nous pouvons encore citer celle de RITSERT (57), en 1909. Voulant se rendre compte de la vitesse d'élimination de la subcutine (phénolsulfonate du *p.* aminobenzoate d'éthyle) il s'administra à lui-même, en deux jours, 50 et 80 cm³ d'une solution à 1/100 de cet anesthésique. Puis il rechercha l'acide *p.* aminobenzoïque dans ses urines, directement, sans extraction, en diazotant et copulant au β naphтол. Il en conclut : « Après quinze minutes seulement, j'ai pu déceler dans l'urine l'acide *p.* aminobenzoïque ; au bout de deux à trois heures, la réaction de l'urine était déjà négative. »

II. Méthodes utilisées, expériences et résultats :

Nous avons employé la méthode d'extraction précédemment mise au point : 50 cm³ d'urine non déféquée, préalablement amenée par quelques gouttes d'acide formique pur au pH 3,5, en présence d'un papier au méthylorange, sont

épuisés par l'éther dans l'appareil à extraction continue pendant une heure et demie. La solution éthérée obtenue est agitée avec une solution de soude diluée et l'acide *p.* aminobenzoïque qui est passé en solution aqueuse est diazoté et copulé au gaïacolsulfonate de potassium. Mais, à l'inverse de ce qui se passe en milieu basique lors de l'extraction de la novocaïne, l'éther enlève, au pH 3,5, à l'urine (même celle d'homme bien portant) des pigments colorés et une grande quantité de composés, en particulier des acides aminés, susceptibles de donner une réaction de diazotation fortement positive. De plus, l'extraction ne se fait pas aussi bien qu'avec les solutions aqueuses, que l'on emploie l'appareil à extraction continue ou l'ampoule à décantation. C'est ainsi qu'ayant ajouté la quantité relativement forte de 5 mg d'acide *p.* aminobenzoïque dans 50 cm³ d'urine (concentration 1/10.000) nous n'avons pu en retirer, lors de trois essais, que 22, 25 et 21 % (et encore dans les colorations obtenues entrainait pour une part celle donnée par les impuretés extraites simultanément de l'urine).

Nous n'avions donc pas à notre disposition une méthode de recherche très sensible et nous ne pouvions songer à un dosage. Cependant, la novocaïne étant entièrement décomposée dans l'organisme en donnant la moitié de son poids environ d'acide *p.* aminobenzoïque, notre méthode était quand même suffisamment sensible pour rechercher, dans les urines, d'aussi fortes quantités d'acide que celles qui avaient pris naissance à partir de l'anesthésique injecté.

Dans les expériences où nous nous sommes injecté à nous-même par voie intramusculaire respectivement 20 cg et 40 cg de novocaïne, nous n'avons obtenu que des résultats très peu nets.

Nous avons effectué à nouveau cette recherche dans les urines plus concentrées de lapin. Après la première injection de 20 cg, nous n'avons obtenu, avec l'urine de vingt quatre heures, qu'une réaction de diazotation à peu près deux fois plus intense que celle donnée par le témoin préparé la veille

de l'injection. Or, si tout l'acide *p.* aminobenzoïque qui a été libéré par hydrolyse de la novocaïne, avait été éliminé en nature par la voie rénale, nous aurions obtenu une coloration rouge très intense. Aussi avons-nous pensé que cet acide *p.* aminobenzoïque qui a pris naissance dans l'organisme, est éliminé en grande partie sous forme combinée, comme celui que l'on administre per os ou que l'on injecte expérimentalement. Il a été en effet prouvé que, dans ces conditions, ce composé est acétylé dans l'organisme de l'homme et du lapin (mais pas dans celui du chien). Les chercheurs ne sont pas tout à fait d'accord sur le pourcentage de produit ainsi conjugué.

ELLINGER et Marie HENSEL (58) qui, en 1914, ont été les premiers à montrer cette acétylation, ont trouvé que 30 % au moins de cet acide injecté à un lapin sont excrétés par les urines sous forme d'acide *p.* acétylaminobenzoïque.

Parmi les nombreux travaux qui ont été effectués par la suite, citons ceux de MUENZEN, CERECEDO et SHERWIN (59), en 1926. Ayant fait ingérer 3 g d'acide *p.* aminobenzoïque en trois jours à un lapin, ils ont retrouvé dans les urines, lors de deux essais, respectivement 1,96 g et 2,16 g de dérivé acétylé soit 50 et 55,1 % de la quantité administrée. Deux expériences identiques chez l'homme leur ont permis de retrouver après ingestion de 5 g d'acide *p.* aminobenzoïque 3,48 g et 2,72 g de dérivé acétylé soit 53,3 % et 41,6 % de la quantité administrée.

En 1933 cependant, HARROW, MAZUR et SHERWIN (60) écrivent que l'acide *p.* aminobenzoïque est acétylé par le lapin dans une proportion moyenne de 25 %.

Enfin en 1942, ZEHENDER (61) utilisant une méthode colorimétrique sensible et non plus, comme ses prédécesseurs, le procédé délicat consistant à isoler de l'urine et à peser le composé acétylé, trouve que l'acétylation est beaucoup plus importante. C'est ainsi qu'ayant administré à un homme 1 g d'acide *p.* aminobenzoïque il en retrouve 68 % sous forme de combinaison acétylée dans les urines de vingt

quatre heures. Il fait remarquer en outre que les petites doses sont en proportion plus acétylées que les grandes et que l'importance du phénomène varie chez les individus de la même espèce.

Il nous a donc paru nécessaire de faire une nouvelle expérience au cours de laquelle nous avons fait subir aux urines analysées, avant d'en extraire l'acide *p.* aminobenzoïque, une hydrolyse chlorhydrique afin de scinder le dérivé acétylé. Nous avons injecté à un lapin 24 cg de novocaïne. Les urines recueillies vingt-quatre heures avant et vingt-quatre heures après l'injection, ont été additionnées d'acide chlorhydrique pur (2 cm³ dans 50 cm³ d'urine) et portées au bain-marie bouillant pendant une heure. L'extraction a été ensuite pratiquée dans les conditions habituelles et la réaction de diazotation nous a fourni une coloration rouge très intense pour l'urine de vingt quatre heures après l'injection cependant que le témoin ne donnait qu'une coloration jaune relativement faible. Au bout de quarante huit heures nous avons pu observer encore une légère coloration rouge. Après quarante huit heures, le manque de sensibilité de cette recherche ne nous a pas permis d'apprécier exactement la fin de l'élimination.

Lors de notre première expérience sur l'homme, par voie intraveineuse, nous avons également appliqué cette technique et nous avons pu de même mettre en évidence, après hydrolyse chlorhydrique, l'acide *p.* aminobenzoïque dans les urines de vingt quatre heures après l'injection.

Donc comme il fallait s'y attendre, l'acide *p.* aminobenzoïque qui a pris naissance aux dépens de la novocaïne, est acétylé dans les organismes de l'homme et du lapin comme celui qui a été injecté ou fait ingérer en nature par les divers auteurs précédemment cités. Cette conjugaison semble être très importante, dans le cas d'injection de novocaïne, en raison de la faible quantité d'acide *p.* aminobenzoïque mis en jeu, et peut-être aussi, en raison du fait qu'au lieu d'être injecté ou ingéré massivement ce composé prend naissance

dans le foie c'est-à-dire dans l'organe même où s'effectue l'acétylation.

THIEULIN (1) (de même que RITSERT (57)) n'a pas envisagé cette possibilité de conjugaison de l'acide *p*. aminobenzoïque et de plus il n'a pas vu qu'il était nécessaire de se placer aussi près que possible du *pH* 3,5 pour l'extraction de ce composé. Dans ces conditions, ses résultats concernant son élimination ont dû manquer de netteté.

Conclusion :

L'acide *p*. aminobenzoïque qui prend naissance dans l'organisme humain aux dépens de la novocaïne est combiné en majeure partie à l'acide acétique dans cet organisme, et, par suite, il est éliminé par la voie rénale principalement sous forme d'acide *p*. acétylamino-benzoïque et en faible quantité seulement sous forme libre.

Remarque. — Nous n'avons pas cherché à déceler dans les urines le diéthylaminoéthanol. THIEULIN (1) a employé dans ce but une réaction qui n'est pas spécifique (voir p. 78) et FOSDICK et HANSEN (62) font remarquer que ce composé est à son tour probablement décomposé en amines primaires et secondaires.

CHAPITRE III

INFLUENCE DE L'INJECTION DE NOVOCAÏNE SUR LA FORMULE URINAIRE

I. Bibliographie :

Dès 1911, RICHE et CHAUVIN (63) étudient les urines de vingt malades soumis à la rachinovocaïnisation lombaire, et concluent : « L'albumine est le seul produit anormal dont on ait à tenir compte dans les urines des opérés sous la rachinovocaïnisation. La novocaïne rachidienne ne donne que dans un quart des cas des albuminuries très légères toujours au dessous de 2 g et aussi très fugaces, ne dépassant pas trois jours ». Ils signalent également avoir constaté une fois une glycosurie et qui ne dura que deux jours, et deux cas d'urobilinurie.

En 1913, CHAUVIN et ŒCONOMOS (64), à une époque où les malades soumis à un jeûne préanesthésique, étaient purgés la veille de l'opération, analysent les urines de trente et un opérés dont huit sous rachianesthésie à la novocaïne (6 à 10 cg) et en outre les urines d'un sujet atteint de sciatique ayant reçu par voie intrarachidienne 7 cg de cet anesthésique sans opération ni changement de régime. Nous reproduisons ici la plus grande partie des conclusions auxquelles ces auteurs sont arrivés :

1° L'opération pratiquée dans les conditions habituelles de la clinique entraîne des troubles urinaires de deux ordres :
a) augmentation légère et quelquefois inconstante de tous les produits azotés traduisant une usure exagérée de la molé-

cule albuminoïde; b) acidose presque constante et le plus souvent très marquée, se traduisant par une augmentation de l'ammoniaque, de l'acidité brute, de l'acétone, du coefficient de Maillard, et jetant dans le torrent circulatoire une quantité de produit toxiques.

2° Ces troubles s'observent indifféremment, quel que soit l'anesthésique employé et qu'elle qu'en soit la dose, qu'il s'agisse d'anesthésie générale, de rachianesthésie, d'anesthésie locale à la cocaïne.

3° Ils ne sont pas observés après la rachianesthésie sans opération et sans diète ». (Cas du sujet atteint de sciatique; les auteurs notent seulement une légère élévation de l'acétonurie.)

« 4° Ils se présentent avec la plupart de leurs caractères après le simple jeûne, sans anesthésie ni intervention chirurgicale.

5° Ils sont atténués dans des proportions considérables si, toutes choses égales d'ailleurs, le malade absorbe 150 g de glucose la veille de l'opération et pendant les trois jours suivants.

6° Nous en avons conclu qu'ils étaient dus pour une grande part au jeûne pré- et post-opératoire; qu'au choc opératoire et au choc anesthésique, il faut ajouter le choc diététique. »

En 1915, MORIAN (65) indique que l'albuminurie fut observée par lui chez un faible pourcentage de ses patients anesthésiés à la novocaïne.

En 1920, THIEULIN (1) au cours de ses recherches sur l'élimination urinaire de la novocaïne chez le lapin, dose l'ammoniaque et les acides aminés urinaires et il conclut : « Il y aurait une augmentation assez conséquente des acides aminés et de l'ammoniaque dans les trois premiers jours suivant l'injection ».

En 1921, JEANBRAU, CRISTOL et BONNET (66 et 67) reprennent les expériences de CHAUVIN et ŒCONOMOS (64) dans de nouvelles conditions, le jeûne et la purgation pré-

opératoire n'étant plus pratiqués, ce qui supprime le choc diététique. Ils déterminent les variations du coefficient de Maillard-Derrien chez 35 opérés dont 20 ont subi la rachianesthésie à la novocaïne (10 à 20 cg) et ils peuvent écrire en ce qui concerne ces derniers : « Jamais avec la rachianesthésie à la novocaïne, nous n'avons vu, durant les jours consécutifs à l'intervention, le rapport d'acidose s'élever au-dessus du chiffre trouvé la veille de l'opération. Seule des anesthésiques employés au cours de nos recherches, la novocaïne ne donne pas d'élévation du rapport d'acidose. Nous pouvons donc conclure que, du chloroforme, de l'éther et de la novocaïne lombaire, c'est cette dernière qui détermine le choc anesthésique minimum ».

En 1922, COTTALORDA (68) note au sujet de l'anesthésie locale : « La seule modification notée et constante est un certain degré d'oligurie que l'on rattache plutôt à une action nerveuse ».

Mais au sujet de la rachianesthésie il écrit : « Des troubles des fonctions rénales sont constants et paraissent dus à une irritation nerveuse ».

En 1925, CRAINICIANU, ARNAUD et FLORIAN (69) pratiquent une rachianesthésie à la novocaïne sur trois sujets qui ne sont pas opérés, mais sont ensuite traités comme des opérés (régime, repos complet, etc.). Ils notent une diminution sensible du volume de l'urine, cependant que la concentration de l'urée diminue dans un cas et augmente légèrement dans les deux autres, la quantité d'urée éliminée en vingt quatre heures étant en fait diminuée dans les trois cas.

En 1929, ROYER (70) estime que l'anesthésie intrarachidienne à la novocaïne, chez l'homme, a seulement une légère influence sur l'urobilinurie.

Enfin plus récemment, en 1938, MIHAELOFF (71) analyse les urines de quinze malades à formule urinaire normale avant l'opération. Tous sont anesthésiés avec une solution de novocaïne à 1/100 (volume non précisé). Nous ne saurions mieux

faire que de donner in extenso les conclusions que cet auteur tire de ses expériences :

« 1° Sans pouvoir préciser la part revenant, dans les cas d'opération, avec anesthésie, à l'opération elle-même et à ses conséquences, dans les troubles urinaires, il est cependant incontestable que les anesthésiques y jouent un rôle assez grand.

2° L'albuminurie, dans ce cas, n'est pas nécessairement accompagnée de cylindres et elle n'entraîne pas, non plus, forcément, l'apparition d'autres éléments anormaux résultant de la dégradation de l'albumine elle-même.

3° Il y a acétonurie sans pigments hépatiques, mais pas de pigments hépatiques sans acétonurie.

4° L'acétone apparaît avant ou, au plus tard, en même temps que les pigments hépatiques, mais pas après. Tel n'est pas toujours le cas de leur disparition.

5° Il n'y a aucun rapport de proportionnalité entre la quantité de l'acétone et des pigments hépatiques.

6° Le trouble urinaire n'est pas soumis à une règle générale. Il peut être le maximum dès le premier jour, après l'intervention chirurgicale, pour diminuer ensuite régulièrement. Il se peut aussi que ce maximum ne soit atteint que le deuxième jour, même plus tard, pour diminuer après, toujours progressivement.

7° Tous ces troubles sont passagers. »

De cette revue bibliographique, nous pouvons déduire que les auteurs précités ne sont pas entièrement d'accord sur tous les points et en particulier, sur la part qui revient à l'anesthésique dans les troubles urinaires observés. C'est pourquoi nous avons jugé bon d'effectuer simultanément à la recherche de la novocaïne et de l'acide *p.* aminobenzoïque, l'analyse des urines des sujets anesthésiés en particulier au cours des deux expériences faites sur nous-même, car, l'anesthésie n'étant pas suivie d'opération, nous avons là un moyen de nous renseigner indiscutablement sur l'influence sur la formule urinaire de l'injection intramusculaire de novocaïne.

CHAUVIN et ŒCONOMOS (64) ont fait une expérience chez l'homme, ainsi que nous l'avons signalé, mais la voie utilisée était la voie épidurale et la dose d'anesthésique injectée n'était que de 7 cg. Nos expériences sont faites avec des doses intramusculaires de 20 et 40 cg.

CRAINICIANU, ARNAUD et FLORIAN (69) ont également anesthésié à la novocaïne trois sujets sans opération ultérieure, mais encore avec de faibles doses intra-rachidiennes et ils n'ont en outre mesuré que le volume de l'urine et l'urée.

THIEULIN a fait, comme nous l'avons fait, quelques recherches similaires sur le lapin, mais avec des doses intramusculaires relativement très fortes et ses conclusions sont en complet désaccord avec celles de CHAUVIN et ŒCONOMOS (64) et avec celles de JEANBRAU, CRISTOL et BONNET (66 et 67).

II. Analyse des urines :

Nous avons analysé les urines de vingt quatre heures*, une ou deux fois avant l'injection pour établir la formule urinaire normale, et après l'injection pendant cinq jours, ou, s'il y avait lieu, le temps nécessaire au rétablissement de la formule normale.

Nos déterminations ont porté sur :

La densité.

Éléments normaux :

L'azote total,

l'azote amino-ammoniacal et l'acidité,

l'urée,

l'acide urique.

* Après l'injection, l'urine des premières 24 heures a été recueillie par fractions desquelles nous avons prélevé le volume nécessaire pour la recherche de la novocaïne. A chaque fraction, nous avons enlevé une même portion du volume initial, avant de les mélanger, de manière à bien obtenir la composition de l'urine de vingt quatre heures.

Éléments anormaux :

L'acétone,
l'albumine,
le glucose,
l'urobiline,
les pigments biliaires,
les sels biliaires.

Nous avons recherché les méthodes simples qui, si elles ne donnent pas toujours des résultats absolus, répondent cependant au but de comparaison que nous nous proposons.

L'azote total a été déterminé par kjeldahlisation en présence d'oxalate de potassium et de sulfate de cuivre comme catalyseur et dosage de l'ammoniaque formée par la méthode de formol-titration de Ronchèse.

L'azote amino-ammoniacal a été également dosé par la technique de Ronchèse, la neutralisation initiale de l'urine nous fournissant l'acidité.

L'urée a été déterminée par la méthode à l'hypobromite de sodium.

L'acide urique a été précipité à l'état de sel d'ammonium et titré par l'iode en milieu bicarbonaté selon le procédé Hopkins-Ronchèse.

L'acétone a été dosée par iodométrie après distillation.

L'albumine a été recherchée par la technique habituelle de chauffage après saturation au sulfate de sodium, filtration et addition de quelques gouttes d'acide acétique au tiers.

Le glucose a été recherché à l'aide de la liqueur de Fehling.

La recherche de l'urobiline a été effectuée à l'aide de l'acétate de zinc en milieu alcoolique, celle des pigments biliaires par le procédé Grimbert, et celle des sels biliaires par la réaction de Hay.

Les déterminations de l'azote amino-ammoniacal et de l'urée nous ont permis de suivre, à l'instar de JEANBRAU, CRISTOL et BONNET (66 et 67), les variations du rapport de Maillard-Derrien :

Azote formol

Azote hypobromite

normalement égal à 6/100.

III. Expériences et résultats :

Nous n'exposerons ici que les deux expériences que nous avons faites sur nous-même en nous injectant la première fois 20 cg, la seconde fois 40 cg de novocaïne par voie intramusculaire. Comme nous l'avons dit, ces expériences, où nous supprimons et le choc diététique et le choc opératoire, doivent nous permettre de nous renseigner exactement sur la part qui revient au choc anesthésique dans les modifications constatées de la formule urinaire des opérés sous novocaïnisation, et ainsi indirectement sur l'importance même de ce choc.

Nous nous sommes placé dans des conditions identiques pendant toute la durée de chaque expérience; en particulier, nous avons suivi aussi exactement que possible le même régime alimentaire, de manière à éliminer tous les facteurs autres que l'anesthésique, pouvant troubler la formule urinaire. Les résultats obtenus se trouvent condensés dans les tableaux XII et XIII ci-après.

Discussion des résultats :

Il ressort de ces deux expériences, en particulier de la seconde où la dose d'anesthésique injectée est quatre fois plus forte que la dose maxima du Codex 1937, que l'injection de novocaïne n'a pas provoqué de perturbation appréciable dans la formule urinaire.

Ni l'azote total, ni l'azote amino-ammoniacal, ni l'urée, ni l'acide urique, n'ont accusé d'augmentation sensible, surtout si l'on tient compte, comme il se doit, non pas de la teneur par litre d'urine, mais de la quantité éliminée en vingt quatre heures. Corrélativement, le coefficient de Maillard-Derrien est resté pratiquement fixe.

TABLEAU XII

		12/9 1943	13		14	15	16	17	18
Densité (25°)		1 011	1012,5		1 013	1 014	1 012	1011,5	1 013
Acidité		50	65		50	70	60	55	60
Azote total en g	par 1. ...	3,94	4,87		4,93	5,39	4,70	4,11	5,05
	par 24 h.	10,06	12,41		11,24	10,29	11,42	10,93	11,26
Azote amino- ammoniacal en g	par 1. ...	0,17	0,21		0,22	0,23	0,21	0,16	0,19
	par 24 h.	0,44	0,53		0,50	0,44	0,51	0,43	0,42
Urée en g	par 1. ...	6,07	8,41		8,43	8,65	8,05	6,48	7,98
	par 24 h.	15,78	21,44		19,22	16,52	19,56	17,24	17,79
Azote uréique en g	par 1. ...	2,83	3,82		3,93	4,03	3,75	3,02	3,72
	par 24 h.	7,36	9,74		8,96	7,70	9,10	8,03	8,30
Acide urique en g	par 1. ...	0,20	0,26		0,30	0,31		0,22	0,28
	par 24 h.	0,52	0,66		0,68	0,59		0,58	0,62
Acétone en mg par l.		6,8	9,2		8,7	7,3	6,5	4,9	9,3
Albumine		0	0		0	0	0	0	0
Glucose		0	0		0	0	0	0	0
Urobiline		0	0		0	0	0	0	0
Pigments biliaires		0	0		0	0	0	0	0
Sels biliaires		0	0		0	0	0	0	0
Rapport de Maillard- Derrien		6	5,5		5,6	5,7	5,6	5,3	5,1

injection de 20 cg de novocaine

TABLEAU XIII

	21/9 1943	22		23	24	25	26	27
Densité (21°)	1012,5	1012,5		1011,5	1012,5	1010,5	1012,5	1011
Acidité	70	55		60	65	60	75	65
Azote total	par 1.	4,38	4,70	4,35	4,64	3,94	4,87	4,23
en g	par 24 h.	10,07	11,98	10,92	10,90	10,72	11,49	11,34
Azote amino-	par 1.	0,18	0,19	0,18	0,18	0,17	0,21	0,18
ammoniacal	par 24 h.	0,41	0,48	0,45	0,42	0,46	0,50	0,48
en g	par 1.	7,15	7,27	6,88	7,57	6,63	7,51	6,78
Urée en g	par 24 h.	16,44	18,54	17,27	17,79	18,03	17,72	18,17
Azote uréique	par 1.	3,33	3,39	3,21	3,54	3,09	3,50	3,16
en g	par 24 h.	7,66	8,64	8,06	8,32	8,40	8,26	8,47
Acide urique	par 1.	0,23	0,27	0,22	0,25	0,20	0,23	0,24
en g	par 24 h.	0,53	0,69	0,55	0,59	0,54	0,54	0,64
Acétone en mg par 1.	4,9	5,5		5,8	3,9	4,9	6,1	7,4
Albumine	0	0		0	0	0	0	0
Glucose	0	0		0	0	0	0	0
Urobiline	0	0		0	0	0	0	0
Pigments biliaires	0	0		0	0	0	0	0
Sels biliaires	0	0		0	0	0	0	0
Rapport de Maillard- Derrien	5,4	5,6		5,6	5,1	5,5	6	5,7

injection de 40 cg de novocaine

La quantité d'acétone est restée sensiblement la même (traces normales).

Enfin, ni l'albumine, ni le glucose, ni l'urobiline, ni les pigments et les sels biliaires ne sont apparus.

Bien qu'ayant utilisé un mode d'injection différent, et des doses beaucoup plus fortes, nous sommes en complet accord avec JEANBRAU, CRISTOL et BONNET (66 et 67) qui ont constaté la fixité du rapport d'acidose dans les urines d'opérés sous-rachinovocaïnisation; avec CRAINICIANU, ARNAUD et FLORIAN (69) qui ont montré que le taux d'urée n'augmente pas dans l'urine des rachianesthésiés sans opération, et avec CHAUVIN et ŒCONOMOS (64) sauf en ce qui concerne l'acétone. Ces derniers en effet, analysant les urines d'un sujet atteint de sciatique auquel on a administré 7 cg de novocaïne par voie intrarachidienne notent: « Seule l'acétone présente une élévation légère, un peu moins intense qu'on ne l'observe à la suite des opérations. » Peut-être cette légère divergence vient-elle de la différence des modes d'administration de l'anesthésique. Comme nous le faisons remarquer plus bas, nous avons pu constater un cas d'acétonurie très forte après opération sous rachianesthésie. COTTALORDA (68) d'ailleurs, insiste, pour sa part, sur cette influence du mode d'administration et c'est peut-être également la raison pour laquelle nous n'avons pas observé la légère augmentation de l'urobiline urinaire signalée par ROYER (70).

Nos résultats sont, par contre, opposés à ceux de THIEULIN (1) et aux conclusions de MIHAELOFF (71). THIEULIN (1) expérimentant sur le lapin conclut à une augmentation des acides aminés et de l'ammoniaque dans les trois jours suivant l'injection intramusculaire de novocaïne. Mais remarquons qu'ici, si le mode d'administration est le même, les doses administrées sont considérablement plus fortes que les nôtres relativement au poids de l'animal, et qu'en outre, les sujets d'expérience sont différents.

Conclusion :

L'injection intramusculaire de novocaïne à l'homme, aux doses usuelles, n'entraîne aucune modification appréciable de sa formule urinaire.

REMARQUE. — Nos premières recherches de la novocaïne ont été faites, sans succès, comme nous l'avons dit, sur des urines d'opérés. Simultanément, nous avons analysé ces urines. Nous ne reproduirons pas ici tous les résultats que nous avons obtenus; ils n'offrent en général aucun intérêt nouveau, de très nombreuses analyses d'urines d'opérés sous novocaïnisation ayant déjà été publiées. Nous pensons cependant qu'il peut y avoir quelque intérêt à rapporter ici un cas d'acétonurie après opération sous rachinovocaïnisation, plus intense que ceux qui ont été signalés jusqu'ici.

Le sujet, âgé de 42 ans, a été opéré le 6 mai 1942 d'une hernie inguinale après injection intrarachidienne de 7/10 de cm³ d'une solution de novocaïne à 12/100, soit 8,4 cg. Voici les teneurs d'acétone en grammes par litre d'urine que nous avons pu observer :

TABLEAU XIV

Date	5/5/42	6	7	8	9	10	11	12
Acétone en g par litre	0	0,93	0,58	0,21	0,04	0	0	0

L'acétonurie la plus intense signalée jusqu'ici après opération sous rachinovocaïnisation est le cas N° XXIV de CHAUVIN et CECOMOS (64) avec 0,138 g par litre.

Notons que, parallèlement, tous les composés azotés ont présenté une augmentation considérable avec maximum le 7 mai. L'azote total, par exemple, a accusé une augmentation de 140 %.

Des traces d'albumine ont été également décelées dans les 24 heures suivant l'injection.

Les urines étaient tout à fait normales avant l'opération, et, la hernie mise à part, le sujet était en parfaite santé.

Il n'est pas de notre compétence de rechercher le mécanisme de ces modifications; nous nous bornons à les constater et à signaler leur possibilité au chirurgien et à l'analyste.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Depuis 1905, date de sa découverte par Einhorn, la novocaïne a fait l'objet de très nombreux travaux. Nous pensons cependant être arrivé à préciser encore quelques points intéressants de ses propriétés physiques, chimiques et biologiques.

En général, les chimistes qui ont à faire une extraction, choisissent le solvant organique qui leur paraît le plus approprié et font, avec un certain volume de ce solvant, un nombre arbitraire de lavages, trois le plus généralement. A leur inverse, nous avons voulu étudier, dans la première partie de notre thèse, l'extraction de la novocaïne et de l'acide *p*. aminobenzoïque à partir de leurs solutions aqueuses, d'une manière aussi systématique que possible, et voici les conclusions auxquelles nous sommes arrivé :

1° Nous appuyant sur la notion de coefficient de partage, nous avons montré que le chloroforme est, théoriquement, le meilleur liquide extracteur de la novocaïne-base; cette qualité est améliorée par l'addition d'alcool isopropylique; mais pratiquement, l'éther et le benzène peuvent encore être parfaitement employés, les coefficients de partage étant suffisamment élevés.

L'extraction de l'acide *p*. aminobenzoïque est plus difficile et l'éther est le solvant de choix. C'est donc l'éther que nous avons utilisé dans la suite de nos recherches.

2° Les alcalis forts risquant de provoquer une légère hydrolyse de la molécule, il est préférable d'employer, pour déplacer la novocaïne-base de son chlorhydrate, le borate de sodium qui, à saturation, assure un déplacement convenable de cette base, sans dépasser le pH 9.5.

Pour extraire l'acide *p.* aminobenzoïque il sera nécessaire de se placer, aussi exactement que possible, au pH 3,5. Pour ce faire, nous proposons l'addition à la solution à épuiser d'acide formique au 1/10 jusqu'à début de coloration rouge du méthylorange ajouté à la solution (ou d'un papier au méthylorange si la coloration de la solution doit gêner le dosage ultérieur).

3° Avec l'ampoule à décantation, l'extraction quantitative de la novocaïne-base sera aisément obtenue (par exemple sur 50 cm³ de solution aqueuse, il suffit de pratiquer trois lavages avec 20 cm³ d'éther). L'épuisement d'une solution d'acide *p.* aminobenzoïque demandera théoriquement quatre lavages avec son volume d'éther, six lavages avec la moitié de son volume d'éther et pratiquement il conviendra de faire un lavage de plus.

Avec l'appareil à extraction continue que nous avons utilisé, il faudra une heure et demie environ pour extraire 99,9 % de la novocaïne ou de l'acide *p.* aminobenzoïque contenus dans 50 cm³ de solution.

4° Après une revue bibliographique des nombreuses méthodes de dosage de la novocaïne, nous avons étudié spécialement la méthode colorimétrique de CHÉRAMY. En prenant les précautions que nous indiquons, on arrive à une précision de 4 %.

Nous avons appliqué, avec la même précision, cette technique au dosage de l'acide *p.* aminobenzoïque, donnant ainsi, après avoir brièvement exposé les méthodes proposées jusqu'ici, une nouvelle méthode de dosage de cet acide.

5° Les résultats pratiques obtenus montrent que, lorsque la quantité de corps dissous n'est pas trop faible, l'extraction des deux composés à l'éther, à l'aide de l'ampoule à décantation ou de l'appareil à extraction continue, pratiquée dans les conditions précédemment définies, donne de très bons rendements ainsi que le font prévoir les calculs théoriques. Pour de petites quantités de novocaïne (fractions de milligramme dans 50 cm³ de solution) l'ampoule donne les

meilleurs résultats; et, pour de petites quantités d'acide *p.* aminobenzoïque, c'est l'appareil à extraction continue qui occasionne le moins de pertes.

6° Nous sommes également arrivé à séparer chimiquement de deux manières la novocaïne et l'acide *p.* aminobenzoïque : la novocaïne est précipitée à l'état de silicotungstate et il reste en solution l'acide *p.* aminobenzoïque que l'on peut doser par colorimétrie avec une grande sensibilité; ou bien l'acide *p.* aminobenzoïque est précipité quantitativement, à l'aide du récatif de Patein, sous forme de *p.* aminobenzoate de mercure; le précipité est ensuite redissous à l'aide de quelques gouttes d'acide chlorhydrique et on termine par colorimétrie comme précédemment.

Dans notre deuxième partie, nous avons étudié d'une part l'élimination urinaire de la novocaïne et de l'acide *p.* aminobenzoïque chez l'homme, d'autre part l'influence de l'injection intramusculaire de novocaïne sur la formule urinaire de l'homme.

La novocaïne a été recherchée dans les urines selon la technique d'extraction et de dosage précédemment mise au point. La seule différence a consisté en une défécation préalable de l'urine au réactif de Courtonne pour éviter les émulsions.

Les expériences ont été faites après injections intramusculaires et intraveineuses : injections intramusculaires à l'homme sain (les urines d'opérés ne se prêtant pas à une recherche sensible) et accessoirement au lapin dans un but de contrôle; injections intraveineuses à des malades (également pas d'intervention chirurgicale).

Les résultats obtenus montrent très nettement que la novocaïne injectée à l'homme aux doses normalement utilisées en thérapeutique est entièrement décomposée dans l'organisme et ne s'élimine pas en nature par la voie rénale.

L'acide *p.* aminobenzoïque a été également recherché selon les techniques décrites dans la première partie de ce travail.

La réaction colorée obtenue avec les urines de vingt-quatre heures après l'injection est alors assez faible. Pour obtenir une réaction très nette, il est nécessaire de faire subir préalablement aux urines une hydrolyse chlorhydrique.

Nous appuyant sur les nombreux travaux déjà parus sur l'élimination urinaire de ce composé, nous en concluons que l'acide *p.* aminobenzoïque qui prend naissance dans l'organisme humain aux dépens de la novocaïne est en majeure partie acétylé dans cet organisme et, par suite, il est éliminé par la voie rénale principalement sous forme d'acide *p.* acétylaminobenzoïque et en faible quantité seulement sous forme libre.

Les auteurs ne sont pas d'accord sur la part à attribuer à la novocaïne dans les modifications constatées de la formule urinaire des opérés. L'analyse des urines avant et après injections intramusculaires de novocaïne à l'homme, sans intervention chirurgicale ultérieure, nous a permis de conclure que l'injection intramusculaire de novocaïne n'a aucune influence appréciable sur la formule urinaire de l'homme.

BIBLIOGRAPHIE

1. — THIEULIN (R.). — Recherches sur l'élimination urinaire du chlorhydrate de l'éther para-aminobenzoïque du diéthyl-aminoéthénol (novocaïne, syncaïne, etc.). *J. Pharm. Chim.*, **22**, 463-466, 1920.
2. — SCHULEK (E.) und VASTAGH (G.). — Bestimmung des salzsauren Novokains und des salzsauren Kodeins nebeneinander. *Arch. Pharm.*, **266**, 452-455, 1928.
3. — LABAT (J.-A.) et KERGONOU (E.). — Sur l'analyse d'un mélange de chlorhydrate de cocaïne et de novocaïne. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **71**, 120-125, 1933.
4. — GIRAULT (F. et J.). — Dosage de quelques anesthésiques locaux dérivés des amino-alcools. *J. Pharm. Chim.*, **20**, 584-586, 1934.
5. — WILLSTAEDT (H.). — Zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des Novocains. *Biochem. Zeitschr.*, **268**, 182-186, 1934.
6. — DUNLOP (J.-G.). — The fate of procaine in the dog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **55**, 464-481, 1935.
7. — SCHOU (S.-A.) und ABILDGAARD (J.). — Die Zersetzung der Novocainlösungen bei Sterilisierung und Lagerung. *Pharm. Acta Helv.*, **10**, 38-47, 1935.
8. — HARTLEY (F.). — Solutions of Procaine Hydrochloride. *Pharm. J.*, **140**, 461, 1938.
9. — WALRAND (Marie). — Étude expérimentale sur l'élimination de la cocaïne. *J. Pharm. Belg.*, 701-704, 717-725, 741-744, 757-766, 781-783, 1924.
10. — BERTHELOT et JUNGFLISH. — Sur les lois qui président au partage d'un corps entre deux dissolvants. *Ann. Chim. Phys.*, **26**, 396-417, 1872.
11. — LEBEAU (P.) et COURTOIS (G.). — *Traité de Pharmacie chimique*, **2**, 393, Masson, éditeur, Paris, 1938.

12. — REGNIER (J.). — Influence de la concentration des ions H sur un phénomène physiologique : anesthésie de la cornée par le chlorhydrate de cocaïne. *Th. Doct. Sc.*, Paris, 1925.
12. — VINCENT (M.). — Influence de l'acide combiné sur le pouvoir anesthésique des sels de para-amino-benzoyl-diéthylamino-éthanol. *Soc. Biol.*, **97**, 1444-1447, 1927.
14. — EISENBRAND (J.) und PICHER (H.). — Bestimmung der Dissoziationskonstanten, Löslichkeiten und Verteilungskoeffizienten von Pantokain- und Novokainbase. *Arch. Pharm.*, **276**, 1-17, 1938.
15. — CHÉRAMY (P.). — Sur un titrage colorimétrique des solutions de novocaïne. *J. Pharm. Chim.*, **30**, 408-411, 1924.
16. — ECHSNER DE CONINCK. — Recherches sur quelques acides aromatiques et sur l'isomérisation dans la série aromatique. *Ann. Chim. Phys.*, **4**, 528-546, 1895.
17. — IMBERT (H.) et ASTRUC (A.). — De l'acidimétrie. *C. R.*, **130**, 35-37, 1900.
18. — HAHN (F.-L.) und KLOCKMANN (R.). — Die Ermittlung des Potentialgradienten potentiometrischer Titrations bei Verwendung grösserer Reagenszusätze. *Zeitschr. Physik. Chem.*, **157**, 206-212, 1931.
19. — JAULMES (P.). — Analyse des vins, 171, 169, 247. Dubois et Poulain, éditeurs, Montpellier.
20. — FLORENTIN (D.), HEROS (R.) et HEROS (Mme). — Analyse des mélanges Cocaïne-Novocaïne-Stovaïne. *Ann. Chim. Anal.*, **24**, 31-37, 1942.
21. — VALETTE (G.). — De l'emploi de l'acide silico-tungstique pour la caractérisation et le dosage de la novocaïne. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **40**, 28-33, 1933.
22. — THOMIS (G.-N.) et JATRIDÈS (D.). — Sur le dosage des alcaloïdes dans leurs solutions injectables. *J. Pharm. Chim.*, **21**, 585-600, 1935.
23. — SANCHEZ (J.-A.). — Nouvelle réaction pour caractériser la novocaïne et nouveaux procédés pour doser la novocaïne et la stovaïne. *Ann. Chim. Anal.*, **16**, 249-252, 1934.
24. — THOMIS (G.-N.). — Dosage des alcaloïdes sans échantillon de comparaison. *Praktika Akad. Athenon*, **10**, 231-235, 1935.

25. — MATCHETT (J.-R.) et LEVINE (J.). — Méthode de dosage de la novocaïne. *J. Assoc. Off. Agric. Chemists*, **23**, 776-777, 1940.
26. — GALLAIS (F.). — Deux méthodes nouvelles pour le dosage volumétrique rigoureux des alcaloïdes. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **42**° 278-291, 408-416, 1935.
27. — CASTEL (P.) et DUMAS (R.). — Dosage de l'azote par kjeldahlisation dans les anesthésiques locaux de synthèse et dans quelques sulfamides. *Soc. Pharm. Montpellier*, **1**, 113-114, 1943.
28. — SANCHEZ (J.-A.). — Identification de quelques médicaments. *Revista farmaceutica, Buenos-Ayres*, 699, oct. 1917. *J. Pharm. Chim.*, **17**, 204-206, 1918.
29. — HAAG (H.-B.). — Further observations upon the bromine method for the estimation of alkaloids. *J. Am. Pharm. Assoc.*, **22**, 21-22, 1933.
30. — HATCHER (R.-A.) and HATCHER (R.-L.). — Détermination of alkaloids with bromine. *J. Am. Pharm. Assoc.*, **24**, 262-267, 1935.
31. — FIJALKOW (J.-A.) und JAMPOLSKA (M.). — Ueber die quantitative Bestimmung einiger Lokalanästhetika. *Arch. Pharm.*, **270**, 203-205, 1932.
32. — HOFFMANN (W.). — Bromometrische Novokains- und Anästhesins-Bestimmung nach FIJALKOW. *Apotek. Z.*, **47**, 686-687, 1932.
33. — ROSSI (O. A.). — Une méthode bromométrique pour doser la novocaïne dans les solutions pour anesthésie. *Rev. centro estud. farm. bioquim.*, **28**, 60-66, 1938.
34. — VALENCIEN (Ch.) et DESHUSSES (J.). — Dosage bromométrique des esters des acides aminobenzoïques. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, **30**, 245-255, 1939.
35. — RAE (J.). — The volumetric estimation of novocaïne. *Pharm. J.*, 1927, 394, 1931.
36. — IONESCO-MATIU (A.) et POPESCU (Mme). — Le dosage de quelques produits médicamenteux par la méthode mercurimétrique. *Bull. Sc. Pharmacol.*, **38**, 71-76, 1931.
37. — MARICQ (L.). — Dosage potentiométrique de quelques composés précipitables par l'iodomercurate potassique. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **40**, 361-370, 1931.

38. — LAUFFS (A.). — Novocainhaltiges Kokain. *Apothek. Z.*, **42**, 621, 1927.
39. — EISSNER (W.). — Die quantitative kolorimetrische Bestimmung des Novocains und Anästhesins mit β Naphthol. *Arch. Pharm.*, **268**, 322-323, 1930.
40. — CHAKRAVARTI (S. N.) and ROY (M. B.). — Indirect method of estimating cocaine in mixtures of cocaine and novocaine. *Current Sc.*, **6**, 219-220, 1937.
41. — HAVINGA (E.). — Un dosage extinciométrique de la novocaïne et d'autres anesthésiques diazotables. *Recueil Trav. Chim. Pays-Bas*, **60**, 897-904, 1941.
42. — BONNYCASTLE (D.-D.). — The effect of procaine on the respiratory mechanism. *Anesthesia and analgesia*, **18**, 164-168, 1939.
43. — BULLOCK (K.) and MACDONALD (A. D.). — The fate of drugs used in spinal anesthesia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **62**, 39-53, 1938.
44. — RIEGEL (E. R.) and WILLIAMS (J. F.). — New color reaction for procaine and some other local anesthetics and its application to the determination of procaine. *J. Am. Chem. Soc.*, **48**, 2871-2878, 1926.
45. — CO TUI (F. W.) and BENAGLIA (A.). — A simple method of checking various concentrations of solutions of novocaine hydrochloride. *J. Lab. Clin. Med.*, **18**, 636-637, 1933.
46. — REICHARDT (G. F.). — Dosage de la novocaïne. *Chimischeskii Shurnal. Sser. B. Shurnal prikladnoi chimii*, **11**, 387-388, 1938.
47. — KOSTER (H.), SHAPIRO (A.) and POSEN (E.). — A method for the microdetermination of procaine in cerebrospinal fluid. *J. Lab. Clin. Med.*, **21**, 1096-1098, 1936.
48. — PESEZ (M.). — Deux nouvelles réactions colorées de la novocaïne et des composés à radical aminé. *Ann. Chim. Anal.*, **25**, 38, 1943.
49. — SCHULEK (E.) und FLÖDERER (I.). — Gravimetrische Bestimmung von Esterabkömmlingen der p. Aminobenzoesäure mit besonderer Berücksichtigung des Anästhesins und Novocains in Gegenwart von Fremdstoffen. *Zeitschr. Anal. Chem.*, **102**, 186-198, 1935.
50. — SINGH (B.) and AHMED (G.). — Potentiometric studies in diazotization. Determination of aromatic amines. *J. Indian Chem. Soc.*, **15**, 416-420, 1938.

51. — HATCHER (R. A.) and EGGLESTON (C.). — A contribution to the pharmacology of novocain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **8**, 385-405, 1916.
52. — ACHARD (H. P.). — A propos de 200 rachianesthésies. *Th. Doct. Méd.*, Paris, 1918.
53. — GIBB (W. E.) and DEHN (W. M.). — The diazo reaction for detection of certain local anesthetics in urine and in tissues. *J. Lab. Clin. Med.*, **19**, 1018-1019, 1934.
54. — BOGETTI (M.). — Élimination de la novocaïne dans quelques intoxications expérimentales (Élimination rénale). *Giorn. Ital. anesthesia analgesia*, **2**, 434-439, 1936. In *Chem. Abst.*, **31**, 2287, 1937.
55. — EGGLESTON (C.) and HATCHER (R. A.). — A further contribution to the pharmacology of the local anesthetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **13**, 433-487, 1919.
56. — MACDONALD (A. D.) and ISRAELIS (M. C. G.). — The estimation of the relative toxicities and efficiencies of local anesthetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **44**, 359-368, 1932.
57. — RITSERT (E.). — Ueber Subcutin (Anästhesin. sulfo-phénylleum). *Pharm. Z.*, **54**, 797-798, 1909.
58. — ELLINGER (A.) und HENSEL (Marie). — Quantitative Studien über Acetylierungsprozesse im Tierkörper. *Zeitsch. Physiol. Chem.*, **91**, 21-44, 1914.
59. — MUENZEN (J.-B.), CERECEDO (L. R.) and SHERWIN (C. P.). — Comparative metabolism of certain aromatic acids. *J. Biol. Chem.*, **67**, 469-476, 1926.
60. — HARROW (B.), MAZUR (A.) and SHERWIN (C. P.). — Studies in acetylation. The fate of p. aminobenzoic acid in the rabbit. *J. Biol. Chem.*, **102**, 35-38, 1933.
61. — ZEHENDER (F.). — Ueber die Acetylierung von primären aromatischen Aminen *in vivo* und *in vitro*. *Helv. Chim. acta*, **26**, 1338-1352, 1943.
62. — FOSDICK (L. S.) and HANSEN (H. L.). — Study of the products of metabolism of procain hydrochloride. *Dental Cosmos*, **73**, 1082-1084, 1931.
63. — RICHE et CHAUVIN. — Les urines après la rachinovocaïnisation. *Soc. Biol.*, **71**, 63-64, 1911.

64. — CHAUVIN (E.) et ŒCONOMOS (Sp. N.). — Recherches sur la nutrition des anesthésiés et des opérés. *Rev. Chir.*, **47**, 345-371, 1913.
— Recherches sur la formule urinaire des opérés. *Montpellier Médical*, **38**, 145-154 et 169-186, 1914.
65. — MORIAN (R.). — Nierenreinigung nach Novokainanästhesie. *Zent. Chir.*, **28**, 493-495, 1915.
66. — JEANBRAU (E.), CRISTOL (P.) et BONNET (V.). — La rachianesthésie à la syncaïne comparée à la chloroformisation et à l'éthérisation au point de vue de l'acidose. *Bull. Soc. Sc. Méd. et Biol., Montpellier*, 262-267, avril 1921.
— Anesthésie et acidose. Nouvelles recherches sur l'élimination urinaire des opérés. *J. Urol. Méd. et Chir.*, **11**, 505-512, 1921.
67. — BONNET (V.). — Anesthésiques et acidose. *Th. Doct. Méd.*, Montpellier, 1921.
68. — COTTALORDA (M.-J.). — Les problèmes de la pathologie rénale. Leurs applications chirurgicales. *Marseille Médical*, 3-17, 1922.
69. — CRAINICIANU (Al.), ARNAUD (M.) et FLORIAN (I.). — Recherches sur l'azotémie en chirurgie. *J. Chir.*, **30**, 394-405, 1927, *Presse Méd.*, **2**, 1411-1413, 1926.
70. — ROYER (M.). — Action des médicaments, des substances toxiques et des anesthésiques sur l'urobiline dans le sang et dans l'urine. *Rev. Soc. Argentina Biol.*, **5**, 189-199, 1929.
71. — MIHAËLOFF (S.). — Contribution à l'étude des modifications des urines par les anesthésiques en général, la novocaïne en particulier. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **20**, 812-817, 1938.

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos	9
Introduction	II

PREMIÈRE PARTIE

Séparation et dosage de la Novocaïne et de l'Acide *p.* Aminobenzoïque

CHAPITRE PREMIER

I. — Principes de la séparation physique	17
II. — Revue des méthodes proposées	17

CHAPITRE DEUXIÈME

Rècherche du meilleur liquide extracteur de la novocaïne et de l'acide <i>p.</i> aminobenzoïque	20
I. — Étude des liquides extracteurs de la novocaïne	21
1 ^o L'éther	21
2 ^o Le benzène	28
3 ^o Le chloroforme	28
4 ^o Le mélange chloroforme-alcool isopropylique	30
II. — Étude des liquides extracteurs de l'acide <i>p.</i> amino-benzoïque	30
1 ^o L'éther	30
2 ^o Le benzène	33
3 ^o Le chloroforme	33
4 ^o Le mélange chloroforme-alcool-isopropylique	33
5 ^o Le mélange éther-alcool-isopropylique	34
Conclusion	35

CHAPITRE TROISIÈME

Recherche de l'alcali et de l'acide à employer pour déplacer la novocaïne-base et l'acide <i>p.</i> aminobenzoïque.....	36
I. — L'alcali	36
II. — L'acide	37

CHAPITRE QUATRIÈME

Conditions d'extraction de la novocaïne et de l'acide <i>p.</i> aminobenzoïque à partir de leurs solutions aqueuses.....	39
I. — Emploi de l'ampoule à décantation	39
1° Novocaïne	39
2° Acide <i>p.</i> aminobenzoïque	40
II. — Emploi d'un appareil à extraction continue	42
1° Acide <i>p.</i> aminobenzoïque	42
2° Novocaïne	44

CHAPITRE CINQUIÈME

I. — Les méthodes de dosage de la novocaïne	48
A. — Méthode physique	48
B. — Méthodes gravimétriques	48
C. — Méthodes volumétriques.....	49
D. — Méthodes colorimétriques.....	52
E. — Méthodes indirectes	54
II. — La méthode de CHÉRAMY	54

CHAPITRE SIXIÈME

I. — Les méthodes de dosage de l'acide <i>p.</i> aminobenzoïque	58
A. — Méthode gravimétrique	58
B. — Méthodes volumétriques.....	58
II. — Nouvelle méthode colorimétrique.....	59

CHAPITRE SEPTIÈME

Contrôle expérimental de la méthode adoptée	63
I. — Novocaïne	63
1° Extraction à l'ampoule à décantation	63
2° Extraction à l'appareil à extraction continue....	63
Conclusions	64

II. — Acide <i>p.</i> aminobenzoïque	65
1° Extraction à l'ampoule à décantation	65
2° Extraction à l'appareil à extraction continue....	65
Conclusions	66

CHAPITRE HUITIÈME

Séparation chimique de la novocaïne et de l'acide <i>p.</i> amino- benzoïque	67
I. — Précipitation de la novocaïne	67
II. — Précipitation quantitative de l'acide <i>p.</i> amino- benzoïque	69

DEUXIÈME PARTIE

Étude de l'urine des anesthésiés à la Novocaïne

CHAPITRE PREMIER

Élimination urinaire de la novocaïne	77
I. — Bibliographie	77
II. — Méthode de recherche de la novocaïne dans l'urine..	81
III. — Expériences et résultats	83
1° Injection intramusculaire	83
2° Injection intraveineuse	86
Discussion des résultats	87
Conclusion	89

CHAPITRE DEUXIÈME

Élimination urinaire de l'acide <i>p.</i> aminobenzoïque	90
I. — Bibliographie	90
II. — Méthodes utilisées, expériences et résultats	90
Conclusion	94

CHAPITRE TROISIÈME

Influence de l'injection de novocaïne sur la formule urinaire...	95
I. — Bibliographie	95
II. — Analyse des urines	99
III. — Expériences et résultats	101
Discussion des résultats	101
Conclusion	105
 Résumé et conclusions	 107
Bibliographie	111

En ma qualité de censeur de tour, j'ai
lu la thèse ayant pour titre :

« De la Novocaïne »
Extraction — Elimination — Influence
sur la formule urinaire

par M. Georges MÉZI

Je pense que la Faculté peut en per-
mettre l'impression.

Montpellier, le 2 octobre 1944.

Le Professeur :
ASTRUC.

Vu :

Montpellier, le 9 octobre 1944.

Le Doyen :
ASTRUC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Montpellier, le 11 octobre 1944.

Le Recteur :
SARRAILH

DEUXIÈME QUESTION

proposée par la Faculté

Les Alcaloïdes de l'Opium

Acquisitions récentes

